

УДК 577.3 : 543.422.27

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

В. П. СУБОЧ, А. М. ШУЛЬГА, Г. П. ГУРИНОВИЧ, Ю. В. ГЛАЗКОВ,
А. Г. ЖУРАВЛЕВ, академик АН БССР А. Н. СЕВЧЕНКО

СТРУКТУРА ПРОДУКТОВ РЕАКЦИИ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ ХЛОРИНОВ

Реакция фотовосстановления хлоринов привлекает внимание в связи со структурной близостью этих соединений хлорофиллу — основному пигменту фотосинтетического аппарата растений. Установление структуры продуктов фотовосстановления хлоринов является необходимым этапом на пути к выяснению структуры продуктов фотовосстановления хлорофилла. Выводы относительно структур продуктов фотовосстановления хлоринов (¹⁻⁹), имеющиеся в литературе, сделаны на основании данных по электронным (^{4, 7, 10}) и инфракрасным (^{3, 6}) спектрам. Вследствие неоднозначности этих данных, мы исследовали структуру продукта фотовосстановления хлорина e_6 при помощи я.м.р. спектроскопии, которая оказалась весьма плодотворной при изучении фотовосстановленных порфиринов (¹¹).

Хлорин e_6 (триметилловый эфир) был получен по методу Финпера (¹²) и очищен хроматографией на окиси алюминия (IV степень активности, проявление бензолом).

Для получения продуктов фотовосстановления 20 мг хлорина e_6 растворяли в 2 мл пиридина и добавляли к смеси 12 мл этилового спирта и 2 мл водного насыщенного раствора аскорбиновой кислоты. Раствор облучали в фокусе конденсора кинолампой (750 Вт) в течение 10—15 мин. до полного исчезновения полос поглощения хлорина e_6 (контроль за ходом реакции по электронным спектрам). Продукт фотовосстановления экстрагировали хлороформом, экстракт быстро фильтровали и выпаривали в вакууме. Осадок растворяли в небольшом количестве хлороформа и хроматографировали на колонке с окисью алюминия (IV степень активности, проявление хлороформом).

Спектры я.м.р. получены в CCl_4 с концентрацией пигментов 0,05—0,07 мол/л на спектрометре НА 100D фирмы «Varian». В качестве внутреннего стандарта использовали гексаметилдисилоксан. Электронные спектры записывали на спектрофотометре СФ-10.

На рис. 1 представлены спектры я.м.р. хлорина e_6 и продуктов фотовосстановления хлорина e_6 . Три пика в области слабых полей (τ 0,56; 0,73; 1,45 м.д.) относятся соответственно к β -, α -, δ -протонам метиновых мостиков (^{13, 14}). Протоны винильной группы проявляются в области $\sim 2,15$ и 4,00 м.д. Неравноценность протонов CH_2 -группы заместителя в γ -положении обуславливает спин-систему типа АВ с химическим сдвигом протонов 4,80 и 4,92 м.д. Сложный мультиплет около 5,7 м.д. принадлежит «хлоринным» протонам в положениях 7, 8. Шесть метильных групп боковых заместителей хлорина e_6 дают узкие одиночные пики. Из них наиболее сильный сдвиг (5,85) претерпевают метильные протоны группы $COOCH_3$, присоединенной непосредственно к кольцу в положении 6. Протоны эфирных метильных групп в γ -, 7-положениях дают сигналы с τ 6,32 и 6,43 соответственно. Сигналы протонов остальных трех метильных групп расположены при 6,51; 6,65 и 6,86 м.д. Дублет с центром при 8,34 соответствует трем

протонам метильной группы в положении 8. Дублет частично перекрывается с триплетом при 8,39, обусловленным протонами этильной группы. Соответствующий квадруплет почти полностью скрыт сигналами CH_3 -групп в области 6,4 м.д. Протоны метиленовых групп остатка пропионовой кислоты в положении 7 хлорина e_6 дают плохо разрешенные сигналы в области 7—8 м.д. Сигналы центральных NH-протонов в результате экранирующего действия кольцевого тока в молекулах тетрапиррольных пигментов (¹⁵) далеко сдвинуты в сильное поле и обнаруживаются при значениях τ 11,45 и 11,67. В спектре фотовосстановленного продукта наблюдается смещение сигналов протонов боковых заместителей на 0,5—1,4 м.д. в сильное поле. Наиболее сильный сдвиг претерпели протоны метильных групп в β -положениях пиррольных колец (7,89; 7,34 и 7,98). Дублет CH_3 -группы в положении 8 вместе с триплетом этила сдвинут до 8,81 и 8,94 м.д. соответственно. Сигналы «хлориновых» протонов закрыты пиками эфирных метильных групп (6,40; 6,42 и 6,78). Отсутствуют при прежних значениях полей и сигналы протонов метиновых мостиков и NH-групп. В области низких полей, где в исходном хлорине проявляются узкие сигналы протонов CH -групп, возникли две широкие полосы с τ 0,68 и 2,14 м.д. и соотношением интенсивностей 1 : 2.

По оценке интегральной интенсивности указанные сигналы обусловлены тремя протонами. Поскольку при разрыве кольцевого сопряжения сигналы протонов периферии молекулы смещаются в сторону сильных полей, ясно, что сигналы с τ 0,68 и 2,14 м.д. не могут принадлежать протонам метиновых групп. Положение этих сигналов и форма их характерны для NH-протонов линейных тетрапиррольных пигментов, пиррометанов, пирролов (¹⁶, ¹⁷). Известно, что в молекулах порфиринов и хлоринов протоны NH-групп легко подвергаются дейтерообмену (¹⁸). В нашем случае при добавлении дейтерометанола в раствор фотовосстановленного хлорина в спектре я.м.р. исчезают сигналы с 0,68 и 2,14 м.д., что подтверждает их отнесение к протонам трех NH-групп в центре молекулы.

Кроме этих сигналов, в спектре наблюдаются еще три новых одиночных сигнала с 3,46; 4,46 и 4,84 м.д., интегральные интенсивности которых относятся к интенсивности сигнала метильной группы как 1 : 1 : 1 : 3. Из структурной формулы хлорина e_6 (структура I) ясно, что данные сигналы можно отнести к протонам трех метиновых мостиков. Для доказательства этого предположения снова был использован метод дейтерообмена. После выдерживания продукта фотовосстановления в среде дейтерометанола в вакууме в течение трех суток сигнал с 4,84 м.д. уменьшился примерно на 40%. Затем продукт фотовосстановления был окислен в исходный хлорин при помощи тетрахлорбензохинона-1,2. В спектре я.м.р. наблюдалось уменьшение на 40% сигнала с τ 1,40 м.д., который относится к протону метинового мостика в δ -положении (¹⁴).

Таким образом, из спектра я.м.р. следует, что в молекуле продукта фотовосстановления хлорина e_6 имеются три NH-протона и три протона метиновых мостиков, причем молекула не обладает замкнутой сопряженной системой, о чем свидетельствует сдвиг сигналов NH-протонов в сторону слабых полей на 9—11 м.д. и протонов CH -групп в сторону сильных полей на 3—3,5 м.д.

Рассмотрим теперь, какой из предложенных ранее структур может соответствовать полученный спектр я.м.р. Во-первых, этот спектр противоречит структуре с двумя избыточными протонами, локализованными в центре молекулы (³, ⁵⁻⁷), так как в этом случае в спектре я.м.р. продукта фотовосстановления были бы сигналы не трех, а четырех NH-протонов. Во-вторых, спектр я.м.р. продукта фотовосстановления не соответствует структуре с двумя гидрированными кольцами (¹⁰), поскольку в спектре я.м.р. были бы сигналы только двух NH-протонов, а сигналы боковых заместителей заметно усложнились. В-третьих, этот спектр не согласуется со структурой Сили (⁴) с двумя противоположными гидрированными мостиками

(β , δ). В этом случае в спектре я.м.р. наблюдались бы один сигнал СН-протона α -метинового мостика, лежащий в области ~ 4 м.д., и два сигнала СН₂-протонов β , δ -метиновых мостиков, лежащих в области ~ 6 м.д., соотношение интенсивностей которых было бы 1 : 2 : 2. Кроме того, в спектре я.м.р. были бы только сигналы двух NH-протонов, что не соответствует наблюдаемой картине.

В работе Ингоффера с сотрудниками (¹⁹) показано, что при электрохимическом восстановлении хлорина e_6 , мезохлорина e_8 и хлорина p_6 получаются продукты с поглощением в области 480—560 м μ . На основании дейтерообмена и изучения спектров я.м.р. продуктов восстановления, авторы пришли к выводу, что структура продукта восстановления представляет

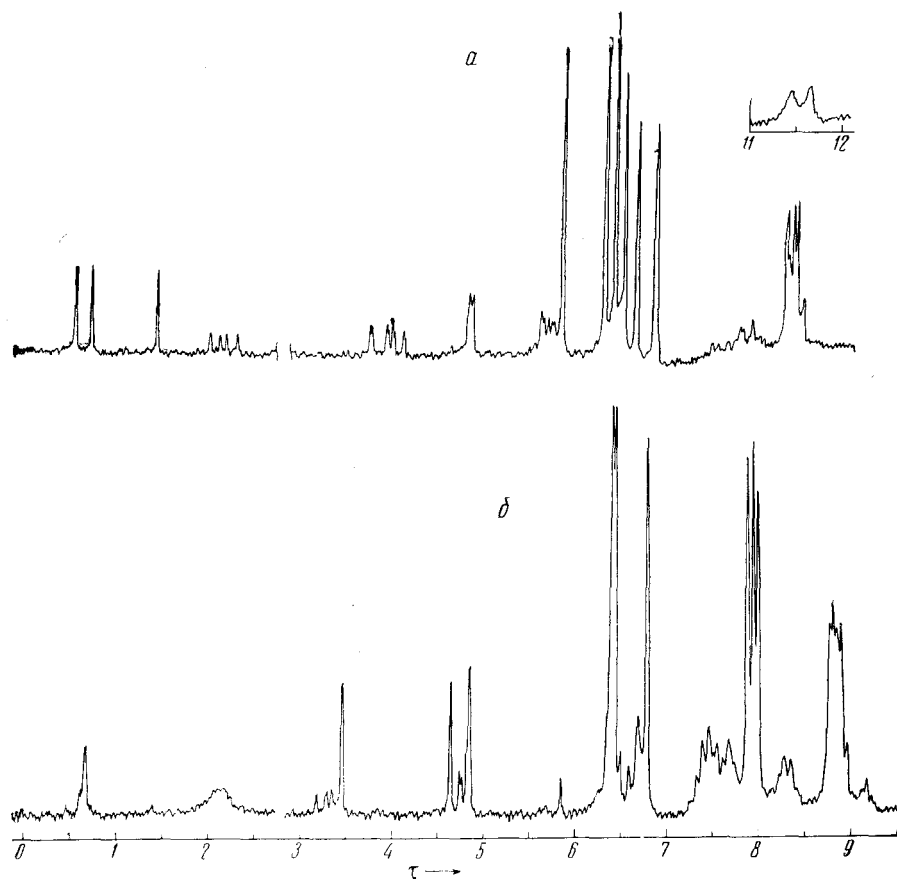
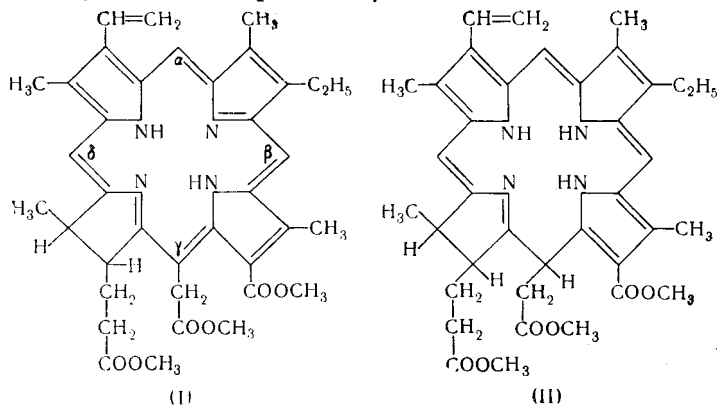


Рис. 1. Спектры я.м.р. исходного (а) и фотовосстановленного (б) хлорина e_6

собой структуру флоринового типа с локализацией одного избыточного атома водорода на атоме азота в центре молекулы, а другого — на β -метиновом мостике. Полученный нами спектр продукта фотовосстановления хлорина e_6 также соответствует структуре флоринового типа, но, в отличие от β -флорина, в нашем случае можно предположить только γ -флориновую структуру (структура II). Такой вывод основан на том, что в спектре я.м.р. продукта фотовосстановления хлорина e_6 имеются три сигнала одинаковой интенсивности, соответствующие СН-протонам α -, β - и δ -метиновых мостиков. Если бы получалась структура β -флорина, то в спектре я.м.р. наблюдались бы два сигнала одинаковой интенсивности, соответствующие протонам α - и δ -метиновых мостиков и сигнал, в два раза более интенсив-

ный, соответствующий CH_2 -протонам β -метинового мостика.



Структура γ -флорина для продукта фотовосстановления хлорина e_6 предполагает наличие еще одного сигнала в спектре я.м.р. от γ - CH -протона. К сожалению, положение этого сигнала, совпадающее с положением сигналов боковых заместителей, и расщепление его, вследствие спин-спинового взаимодействия γ - CH -протона с CH_2 -протонами γ -заместителя не дает возможности четко выделить этот сигнал в спектре я.м.р. Однако даже на основании четко выделенных сигналов NH -протонов и CH -протонов метиновых мостиков для продукта фотовосстановления хлорина e_6 можно предположить лишь структуру II. Такая структура согласуется и с необычной для продуктов фотовосстановления устойчивостью продукта фотовосстановления хлорина e_6 ⁽⁸⁾, и с влиянием винильной группы на дикатион этого продукта ⁽⁹⁾.

Как указывалось в работе ⁽⁸⁾, продукты, совпадающие по электронным спектрам с продуктом фотовосстановления хлорина e_6 , получают и при фотовосстановлении других хлоринов, в том числе и феофитина. Поскольку исходные хлорины обладают одинаковой системой сопряженных связей, схожими спектрами и химическими свойствами, естественно предположить, что и структуры их продуктов фотовосстановления будут аналогичными флориновой структуре фотовосстановленного хлорина e_6 . Естественно, что различные хлорины не обязательно должны давать именно γ -флориновую структуру. Система боковых заместителей может обусловить образование изомерных структур, типа α -, β - и δ -флоринов.

Институт физики Академии наук БССР
Белорусский государственный университет
им. В. И. Ленина
Минск

Поступило
29 X 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **96**, 1201 (1954).
- ² М. С. Ашкинази, И. А. Долидзе, В. Е. Карпитская, Биофизика, **6**, 294 (1961).
- ³ А. Н. Сидоров, А. Н. Теренин, ДАН, **145**, 1092 (1962).
- ⁴ G. R. Seely, A. Folkmans, J. Am. Chem. Soc., **86**, 2763 (1964).
- ⁵ А. Н. Сидоров, ДАН, **161**, 128 (1965).
- ⁶ А. Н. Сидоров, Сборн. Элементарные фотопроцессы в молекулах, М. Л., 1966, стр. 267.
- ⁷ Б. Я. Дайл, М. Н. Усачева и др., Биофизика, **14**, 435 (1969).
- ⁸ А. М. Шульга, В. П. Субоч, Биофизика, **16**, 214 (1971).
- ⁹ В. П. Субоч, А. М. Шульга, Биофизика, **16**, 603 (1971).
- ¹⁰ Г. П. Гуринович, Сборн. Биохимия и биофизика фотосинтеза, М., 1965, стр. 83.
- ¹¹ А. М. Шульга, И. Ф. Гуринович и др., Журн. прикл. спектр., **15**, 1061 (1971).
- ¹² H. Fischer, A. Stern, Chemie Pyrrols, **2**, H. 2, Leipzig, 1940.
- ¹³ W. S. Caughey, W. S. Koski, Biochemistry, **1**, 923 (1962).
- ¹⁴ H. H. Inhoffen, Y. Klofmann, Y. Jeckel, Lieb. Ann. Chem., **695**, 112 (1966).
- ¹⁵ F. D. Becker, R. B. Brodley, J. Chem. Phys., **31**, 1413 (1959).
- ¹⁶ P. Bumfield, R. L. Harris et al., J. Chem. Soc. C, **1966**, 1436.
- ¹⁷ D. Dolphin, R. L. Harris et al., J. Chem. Soc. C, **1966**, 30.
- ¹⁸ S. F. Mason, J. Chem. Soc., 1958, 978.
- ¹⁹ H. H. Inhoffen, P. Jager et al., Lieb. Ann. Chem., **704**, 188 (1967).