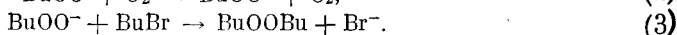
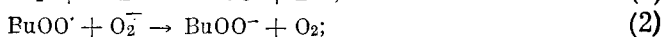
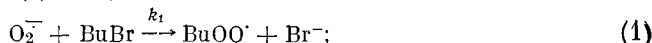


И. Б. АФАНАСЬЕВ, С. В. ПРИГОДА, Т. Я. МАЛЫЦЕВА, Г. И. САМОХВАЛОВ
РЕАКЦИИ ОДНОЭЛЕКТРОННОГО ПЕРЕНОСА С УЧАСТИЕМ
СУПЕРОКСАЙДНОГО ИОНА O_2^- И ХИНОНОВ

(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 4 IX 1972)

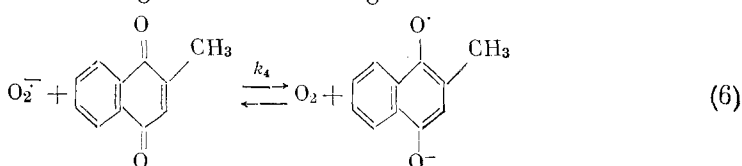
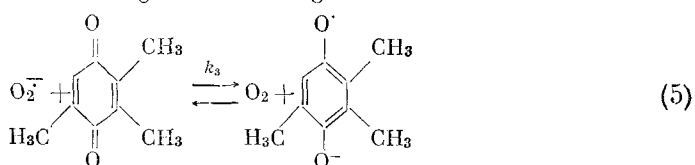
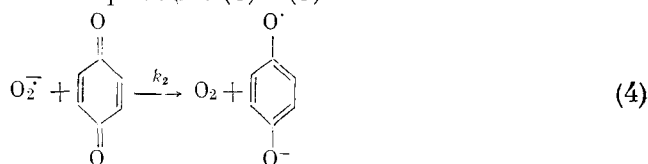
В последнее время большой интерес привлекают к себе химические свойства супероксайдного (супероксидного) иона O_2^- , что связано с обнаружением его в биологических системах и в первую очередь в реакциях ксантин — оксидазы (¹). Поэтому представляется важным изучение реакционной способности O_2^- в реакциях одноэлектронного переноса с компонентами (или их моделями) цепи ферментативного переноса электрона, например, убихинонами, флавинами, цитохромами.

В настоящей работе мы исследовали реакции супероксайдного иона с *n*-бензохиноном, 2,3,5-триметил-*n*-бензохиноном и 2-метилнафтохиноном (менадином) в апротонной среде (диметилформамиде). Супероксайдный ион генерировался электрохимическим восстановлением кислорода в растворе перхлората тетраэтиламмония в ДМФ при постоянной силе тока 1–2 μ а (²). Нами была разработана методика определения концентрации O_2^- , основанная на количественном взаимодействии супероксайдного иона с бромистыми алкилами в ДМФ (³):



Концентрация Br^- , равная концентрации супероксайдного иона, определялась потенциометрическим титрованием растворами нитрата серебра (⁴).

Найденная таким образом концентрация O_2^- оказалась близкой к выходу O_2^- по току (при $[O_2^-] = 0,001–0,01$ мол/л). Было обнаружено, что в атмосфере аргона концентрация O_2^- не меняется в течение 10–20 час. Тем не менее, во всех опытах мы использовали только свежеприготовленные растворы супероксайдного иона. Для определения относительных констант скоростей переноса электрона с супероксайдного иона на хиноны мы изучили конкурентное взаимодействие O_2^- с хинонами и бромистым бутилом. Реакция проводилась при 20° в атмосфере аргона. При этом наряду с реакциями (1)–(3) протекали реакции (4)–(6)



Отношение k_2/k_1 рассчитывали по формуле

$$\frac{[CX]}{1/2 [Br^-]} = \frac{k_2}{k_1} \cdot \frac{[BX]}{[BuBr]} \quad (7)$$

(Здесь $[CX]$ — концентрация бензосемихинона, $[BX]$ — концентрация бензохинона; множитель $1/2$ учитывает тот факт, что $1/2[Br^-]$ образуется в результате побочного процесса (3)). Поскольку конверсия бензохинона в опытах не превышала $\sim 3\%$, а бромистый бутил был взят в большом избытке, в формулу подставляли начальные концентрации бензохинона и бромистого бутила. Концентрацию бензосемихинона определяли спектрофотометрически. Предварительно был найден коэффициент экстинкции бензохинона в растворе ДМФ при $\lambda_{458} \text{ мк}$ $\epsilon_{458}^{BX} = (20,5 \pm 0,6) \text{ л} \cdot \text{мол}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Для определения ϵ^{CX} к раствору бензохинона в ДМФ добавляли раствор O_2^{2-} известной концентрации, причем всегда $[BX] \geq [O_2^{2-}]$. Реакция

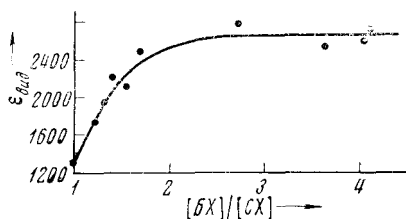


Рис. 1

Рис. 1. Зависимость видимого коэффициента экстинкции бензосемихинона от соотношения бензохинон/бензосемихинон

Рис. 2. Определение отношения k_1/k_2 по уравнению (7)

Рис. 3. Определение отношений k_3/k_1 (1) и k_4/k_1 (2) по уравнению (11)

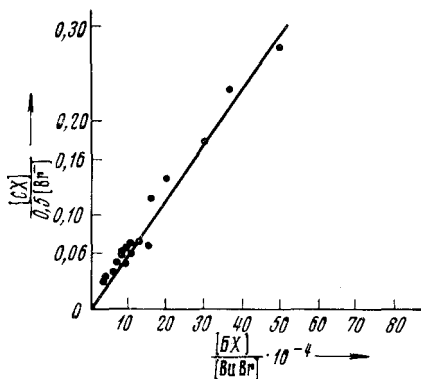


Рис. 2

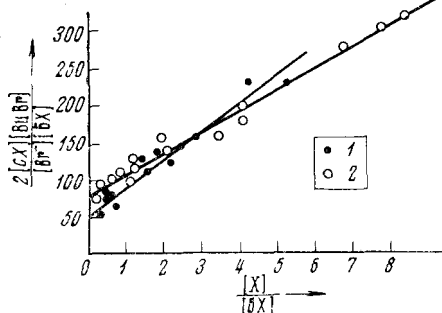


Рис. 3

(4) практически необратима, так как разница потенциалов полуволн восстановления $E_{1/2}^{O_2^{2-}} - E_{1/2}^{BX} = -0,87 \text{ в} + 0,54 \text{ в} = -0,33 \text{ в}$ (⁵, ⁶). Следовательно, $[CX] = [O_2^{2-}]$. Растворы бензосемихинона были стабильны в течение 3–5 час. и более. Было обнаружено, что ϵ_{458}^{CX} зависит от взятого соотношения BX/O_2^{2-} (рис. 1). Как видно из рис. 1, видимое значение ϵ_{458}^{CX} резко возрастает при изменении отношения BX/O_2^{2-} от 1 до 2–3, а при дальнейшем увеличении этого отношения остается постоянным. Обнаруженная зависимость, по-видимому, доказывает образование двойного или тройного комплекса семихинона с бензохиноном. Образование комплекса протекает практически необратимо, так как видимое значение ϵ^{CX} при любом соотношении BX/O_2^{2-} не зависело от разбавления. Были рассчитаны коэффициенты экстинкции для двойного и тройного комплексов бензосемихинона ($\text{л} \cdot \text{мол}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) при λ_{450} и $\lambda_{458} \text{ мк}$:

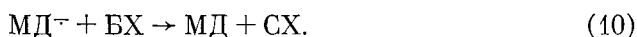
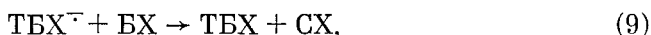
$$\begin{aligned} \epsilon_{450}^{XB} &= 2217 \pm 198, & \epsilon_{450}^{TP} &= 2194 \pm 230, \\ \epsilon_{458}^{XB} &= 2391 \pm 276, & \epsilon_{458}^{TP} &= 2414 \pm 274. \end{aligned}$$

Вследствие того, что значение $\varepsilon_{453}^{\text{BX}}$ невелико, коэффициенты экстинкции двойного и тройного комплексов практически равны. В дальнейшем мы считаем, что образуется тройной «сэндвичевый» комплекс семихинона с бензохиноном, хотя выбор структуры комплекса не сказывался на результатах расчетов. Расчет [CX] проводился по формуле

$$[\text{CX}] = \frac{D - \varepsilon^{\text{BX}} [\text{BX}]}{\varepsilon^{\text{TP}} - 3\varepsilon^{\text{BX}}}, \quad (8)$$

[Br] определялась как разница между $[\text{O}_2^-]_{\text{нач}}$ и [CX]. Результаты опытов представлены на рис. 2. С помощью метода наименьших квадратов по формуле (7) найдено $k_2/k_1 = 56,04 \pm 8,91$.

В отличие от бензохинона потенциалы полуволн восстановления 2,3,5-триметилбензохинона (ТБХ) и менадиона (МД) близки к $E_{1/2}^{\text{O}_2^-}$. Так, например, в ацетонитриле $E_{1/2}^{\text{ТБХ}} = -0,75$ в; $E_{1/2}^{\text{МД}} = -0,77$ в и $E_{1/2}^{\text{O}_2^-} = -0,82$ в (относительно насыщенного каломельного электрода) ^(5, 6). Следовательно, процессы (5) и (6) должны быть равновесными. Действительно, в отличие от реакции с бензохиноном отдувка кислорода аргоном из смеси растворов ТБХ или МД и O_2^- в ДМФ приводила к увеличению оптической плотности в 2–3 раза. В связи с этим для определения отношений k_3/k_1 и k_4/k_1 мы проводили реакцию O_2^- со смесью бромистого бутила, бензохинона и ТБХ или МД. В данном случае по реакциям (4), (5) или (4), (6) должны одновременно образовываться два различных семихинона. Однако поскольку потенциал полуволн восстановления бензохинона намного больше соответствующих потенциалов ТБХ и МД ($E_{1/2}^{\text{BX}} - E_{1/2}^{\text{ТБХ}} = 0,24$ и $E_{1/2}^{\text{BX}} - E_{1/2}^{\text{МД}} = 0,26$ в в ацетонитриле ⁽⁶⁾), то в избытке бензохинона образующиеся по реакциям (5) и (6) семихиноны немедленно реагируют дальше:



Таким образом, реакционная смесь содержит только исходные хиноны и бензосемихинон. Поскольку бензосемихинон в принципе может образовывать комплексы с любым из присутствующих хинонов, мы определяли «видимое» значение CX в присутствии ТБХ и МД. Было найдено, что при λ 450 мμ

$$\varepsilon_{\text{вид}}^{\text{CX}} = 2482 \pm 292 \text{ л} \cdot \text{мол}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \text{ в присутствии ТБХ,}$$

$$\varepsilon_{\text{вид}}^{\text{CX}} = 1483 \pm 137 \text{ л} \cdot \text{мол}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \text{ в присутствии МД}$$

(отношение хинон/бензохинон изменялось в интервале 0,2–5). Легко видеть, что истинные отношения k_3/k_1 и k_4/k_1 могут быть найдены по формуле

$$\frac{[\text{CX}]}{1/2[\text{Br}^-]} \frac{[\text{BuBr}]}{[\text{BX}]} = \frac{k_{(3 \text{ или } 4)}}{k_1} \frac{[\text{X}]}{[\text{BX}]} + \frac{k_2}{k_1}, \quad (11)$$

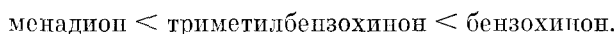
где X = ТБХ или МД.

Результаты опытов представлены на рис. 3. С помощью метода наименьших квадратов найдено:

$$k_3/k_1 = 37,51 \pm 3,83; \quad k_2/k_1 = 53,23 \pm 9,35;$$

$$k_4/k_1 = 28,4 \pm 1,0; \quad k_2/k_1 = 78,50 \pm 3,53.$$

В обоих случаях величина отрезка на оси ординат в пределах ошибки опытов совпадает с ранее определенным значением k_2/k_1 . Полученные результаты показывают, что в реакциях с супероксидным ионом реакционная способность хинонов увеличивается в ряду



Следует, однако, отметить, что различие в константах скоростей данных реакций не слишком велико. Интересно, что по данным Лэнда и Своллоу⁽⁷⁾ константы скоростей реакций гидратированного электрона и оксиметильного радикала с хинонами различного строения (бензохиноном, убихиноном и дуροхиноном) также близки между собой. Эти наблюдения представляют значительный интерес, так как потенциалы полуволн восстановления исследуемых хинонов в ряде случаев резко различаются (см. выше). Таким образом, в неравновесных условиях редокс-потенциалы не могут быть использованы для оценки эффективности различных хинонов, участвующих в реакциях одноэлектронного переноса.

В заключение следует отметить, что обнаруженное в данной работе образование стабильных двойных или тройных комплексов семихинонов с хинонами также интересно сопоставить с тем фактом, что содержание убихинонов в митохондриях в несколько раз превышает содержание других одноэлектронных переносчиков⁽⁸⁾. Поэтому можно предположить, что в ферментативных системах убисемихиноны также существуют в виде π -комплексов с убихинонами.

Всесоюзный научно-исследовательский
витаминовый институт
Москва

Поступило
4 IX 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ J. M. McCord, I. Fridovich, J. Biol. Chem., **243**, 5752 (1968); P. F. Knowles, J. F. Gibson et al., Biochem. J., **111**, 53 (1969); R. C. Bray, F. M. Pick, D. Samuel, Europ. J. Biochem., **15**, 352 (1970). ² J. M. McCord, I. Fridovich, J. Biol. Chem., **244**, 6049 (1969). ³ R. Dietz, A. E. J. Forno et al., J. Chem. Soc. B, 1970, 816; M. V. Merritt, D. T. Sawyer, J. Org. Chem., **35**, 2157 (1970). ⁴ R. Alexander, E. C. F. Ko et al., J. Am. Chem. Soc., **89**, 3703 (1967). ⁵ M. E. Peover, B. S. White, Electrochim. acta, **11**, 1061 (1966). ⁶ M. E. Peover, J. Chem. Soc., 1962, 4540. ⁷ E. J. Land, A. J. Swallow, J. Biol. Chem., **245**, 1890 (1970). ⁸ D. E. Green, D. C. Wharton, Biochem. Zs., **338**, 335 (1963).