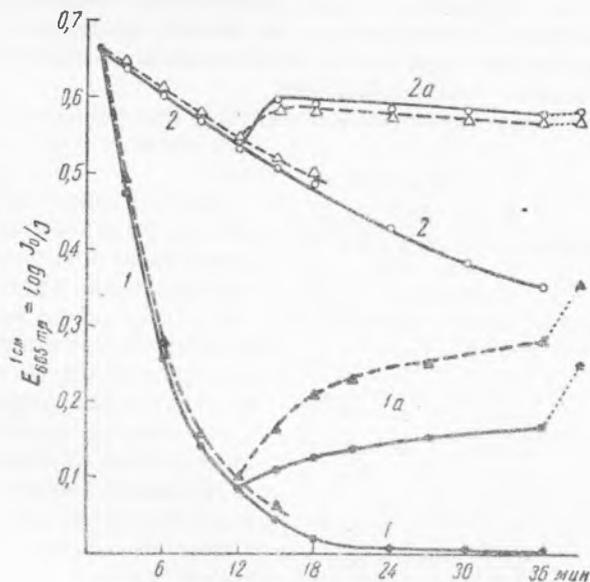


А. А. КРАСНОВСКИЙ

**ОБ ОБРАТИМОСТИ ОКИСЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА  
И ФТАЛОЦИАНИНА МАГНИЯ ПЕРЕКИСЬЮ БЕНЗОИЛА**

(Представлено академиком А. Н. Терениным 10IV 1947)

Экспериментальные данные о возможности обратимого окисления хлорофилла весьма скудны. Рабинович и Вейсс (1) нашли, что хлорофилл окисляется в абсолютном метаноле ионами  $Fe^{+++}$  с обратным восстановлением ионами  $Fe^{++}$ , а также, более медленно, под влиянием избытка неорганических солей, например NaCl. Последнее



Окисление фталоцианина магния и хлорофилла (а + b) перекисью бензоила в спиртовом растворе. 3 мл раствора пигмента ( $E_{665}^{1\text{ см}} = 1,2$ ) + + 1 мл раствора перекиси бензоила.  
1 — фталоцианин магния; 1a — после введения аскорбиновой кислоты; 2 — хлорофилл (а + b); 2a — после введения аскорбиновой кислоты.  
— опыты без хлористого калия, — — опыты с хлористым калием, ... нагревание до кипения. Измерения при 18 С

наблюдение оставляло возможность интерпретации полученных данных как обратимого смещения кетоэнольного равновесия (2).

Нами исследовано окисление различных препаратов хлорофилла и его аналога фталоцианина магния (не способного к кетоэнольной

таутомерии) перекисью бензоила в спиртовом растворе и восстановление продуктов окисления преимущественно аскорбиновой кислотой.

Оказалось, что перекись водорода (от Мерка, pro anal., без стабилизаторов) при той же концентрации в спиртовом растворе, что и перекись бензоила (считая на активный кислород), не приводит к окислению исследованных пигментов.

Для работы применялись растворы пигментов в 95% этиловом спирте с концентрацией  $10^{-5}$  М/л и свежеприготовленные растворы перекиси бензоила в спирте с концентрацией  $7,7 \cdot 10^{-3}$  М/л.

Растворы сливались в кювету (толщина слоя 1 см) спектрофотометра Бекмана (модель DU); значения коэффициента погашения в максимуме поглощения, являющиеся мерой концентрации пигмента, измерялись во времени (рис. 1). Было найдено, что окисленные растворы частично восстанавливаются при введении кристаллической аскорбиновой кислоты (20 мг на 4 мл раствора). Щавелевая, янтарная, пировиноградная, олеиновая кислоты, а также  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$  и  $\text{NaCl}$  оказались неактивными; фенилгидразин ведет себя подобно аскорбиновой кислоте.

Степень обратного восстановления в значительной мере зависит от степени, соответственно, длительности окисления (табл. 1). Длительно реагирующие или нагретые растворы теряют способность к регенерации.

Различные препараты хлорофилла: а, а + b, спиртовой экстракт из сухих листьев крапивы (7-мес. давности), свежеприготовленный экстракт из листьев *Tradescantia* — в общем подобны по характеру поведения; некоторые различия наблюдались в скорости окисления и степени обратного восстановления.

Ослабленная в результате окисления флуоресценция соответственно восстанавливалась при регенерации.

Таблица 1

Спиртовой экстракт из сухих листьев крапивы (с коэффициентом погашения  $E \frac{1 \text{ см}}{665 \text{ м}\mu} = 1,65$ )  
1,5 мл + 1,5 мл раствора перекиси бензоила

Время в мин.	$E$	$E$ после введения аскорбиновой кислоты	% обратимо-восстановленного хлорофилла
0	0,82	—	—
3	0,70	0,740	33
18	0,360	0,490	27
48	0,170	0,300	20
96	0,105	0,210	14

Отсутствие эффекта солей могло быть вызвано наличием в процессе реакции избытка окислителя. Были приготовлены растворы фталоцианина магния и хлорофилла в спирте, насыщенном хлористым калием (от Кальбаума, pro anal.) при  $18^\circ \text{C}$ , и в чистом спирте, с одинаковой концентрацией пигмента.

Измерена скорость окисления и обратного восстановления окисленного продукта при введении аскорбиновой кислоты (рис. 1). Из полученных данных видно, что хлористый калий ускоряет восстановление окисленного фталоцианина магния аскорбиновой кислотой.

В случае хлорофилла наблюдается столь быстрое восстановление промежуточного соединения, что действие хлористого калия не удается заметить.

Действие неорганических солей, наблюдавшееся в опытах Рабиновича и Вейсса (<sup>1</sup>), вероятно, заключается в катализе восстановления окисленного продукта растворителем или содержащимися в нем примесями.

Спектральные свойства продуктов темнового и фотохимического (<sup>2</sup>) окисления пигментов в общем подобны. Фталоцианин магния образует неокрашенные соединения, из хлорофилла образуются окрашенные вещества с поглощением в области 500—600 м $\mu$ .

При окислении перекисью бензоила стационарная концентрация лабильных продуктов (по сравнению со стабильными, характеризующимися поглощением в области 500—600  $\mu$ ) значительно выше, чем при фотохимическом окислении. Это видно из следующих данных: в первом случае введение аскорбиновой кислоты в окисленный раствор приводит к увеличению  $E$  при 665  $\mu$  от 0,220 до 0,330 и уменьшению  $E$  при 520  $\mu$  от 0,112 до 0,080; в подобном опыте фотохимического окисления соответствующие цифры составляют:  $E$  при 665  $\mu$  0,220—0,245 и  $E$  при 520  $\mu$  0,140—0,060.

Из полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Исследованные пигменты при окислении перекисью бензоила дают лабильные и стабильные продукты окисления. Первые способны восстанавливаться аскорбиновой кислотой и некоторыми другими соединениями; эта реакция катализируется неорганическими солями.

2. Окисление связано с исчезновением красного максимума поглощения, откуда следует, что при этом нарушается система конъюгированных связей пигмента, что может произойти, например, при образовании лабильной перекиси. Наибольший наблюдавшийся процент обратного восстановления фталоцианина магния составлял 60%, хлорофилла 40% (от количества окисленного пигмента).

3. Эффект обратимости наблюдается в равной степени у обоих типов пигментов. Это свидетельствует о том, что смещение кетоэнольного равновесия и наличие лабильных атомов водорода не связано с возможностью обратного восстановления.

4. Хромофорная система хлорофилла устойчивее к окислению, чем фталоцианин магния, что вероятно зависит от наличия в молекуле хлорофилла заместителей (винильная группа и пр.), окисляющихся легче, чем система конъюгированных связей, тогда как у фталоцианина магния эта система внутримолекулярно от воздействия не защищена.

5. Нужно полагать, что защита пигментов от окислительных воздействий аскорбиновой кислотой связана с ее биологической ролью в зеленой клетке — восстановлением окисленной части пигментной системы (об окислительно-восстановительных реакциях при фотосинтезе см. подробнее (<sup>4</sup>, <sup>5</sup>)).

Недавно Окунцов (<sup>7</sup>) установил, что введение ионов  $\text{Cu}^{++}$  в растение приводит к повышению устойчивости хлорофилла к выцветанию; быть может, этот эффект связан с активацией восстановления окисленной формы хлорофилла аскорбиновой кислотой; как известно, аскорбиноксидаза является медным соединением.

Возможно также восстановление продуктов побочного фотоокисления хлорофилла, идущего в зеленой клетке с измеримой скоростью при достаточно большой интенсивности освещения (<sup>6</sup>).

Приношу глубокую благодарность акад. А. Н. Теренину за ценные указания и помощь в работе.

Лаборатория фотобиохимии  
Института биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР

Поступило  
10 IV 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> E. Rabinowitch and J. Weiss, Proc. Roy. Soc. (L), **162**, 251 (1937).  
<sup>2</sup> E. Rabinowitch, Photosynthesis and Related Processes, N. Y., 1945.  
<sup>3</sup> А. А. Красновский, ДАН, **58**, № 3 (1947). <sup>4</sup> А. А. Красновский, Усп. совр. биол., **21**, № 2, 153 (1946). <sup>5</sup> А. А. Красновский, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3 (1947). <sup>6</sup> F. Bukatsch, Planta, **30**, 118 (1939); **31**, 209 (1940).  
<sup>7</sup> М. Окунцов, ДАН, **57**, № 4, 407 (1947).