

А. А. КРАСНОВСКИЙ и Г. П. БРИН

ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ФТАЛОЦИАНИНА МАГНИЯ И ХЛОРОФИЛЛА В РАСТВОРЕ

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

С целью получения экспериментальных данных о природе длительно-возбужденного состояния сенсibilизатора и элементарного механизма процесса сделана попытка сравнительного исследования фотосенсибилизирующего действия хлорофилла и фталоцианина магния в спиртовом растворе. Изучались два типа сенсibilизированных реакций: 1) окисление олеиновой кислоты, идущее через присоединение кислорода с образованием перекиси по Баху — Энглеру, 2) окисление аскорбиновой кислоты, заключающееся в дегидрировании с образованием перекиси водорода и дегидроаскорбиновой кислоты.

Реакция исследовалась микроанометрическим методом Варбурга — Баркрофта по убыли парциального давления кислорода над реагирующей системой (1). Освещение сосудов производилось 150-ваттной лампой накаливания через красный светофильтр RG-2 (Шотт). Расстояние от нити лампы до дна сосуда 70 мм. Растворы пигментов в 95% этиловом спирте были приготовлены с одинаковой величиной коэффициента погашения $(E)_{665\text{м}\mu}^{1\text{см}} = 1,2$. Это соответствует концентрации фталоцианина магния $0,64 \cdot 10^{-5}$ мол/л (2) и хлорофилла а+b $0,72 \cdot 10^{-5}$ мол/л (принимая молярный коэффициент погашения для хлорофилла а по Маккинней (3) $1,65 \cdot 10^{-5}$).

Применялся 0,5% раствор аскорбиновой кислоты в спирте (свежеприготовленный) и 5% раствор олеиновой кислоты (перед опытом перегонялась в вакууме).

В сосуд помещали 3 мл раствора пигмента, в боковое плечо 1 мл раствора субстрата. Опыты проводились при температуре от 10 до 40° С. До и после реакции производилось измерение спектра поглощения растворов в области пропускания фильтра (600—700 мμ) на спектрофотометре Бекмана (модель DU). Относительные значения квантового выхода окисления субстрата подсчитаны в виде отношения количества граммолекул поглощенного за час кислорода к средней величине интеграла поглощения в кв. см площади, ограниченной спектральной кривой. Соответственно, количество граммолекул разрушенного красителя, определенное спектрофотометрически, отнесено к средней величине интеграла поглощения. В табл. 1 эти величины увеличены в 10^6 раз.

Применялся свежеприготовленный раствор хлорофилла, дающий положительную фазовую пробу. После фотоокисления фазовая проба становится менее отчетливой.

Следует отметить, что алломеризованный раствор обладает сенсibilизирующим действием, подобным раствору с положительной фазовой пробой. Предварительное освещение раствора пигмента перед опытом не приводило к поглощению кислорода в темноте.

В случае выключения освещения в течение фотохимической реакции дальнейшего поглощения кислорода в темноте также не наблюдалось.

Таблица 1

Система	Относительная величина квантового выхода в произвольных единицах		Примечание
	Разрушение пигмента	Окисление субстрата	
Фталоцианин магния			
Без субстрата	$0,58 \cdot 10^{-3}$	—	Приведены данные для температуры $20 \pm 0,05^\circ\text{C}$. При температурах 10, 30, 40° колебание значений в пределах $\pm 10\%$ от значений при 20°C .
С аскорбиновой кислотой	$0,13 \cdot 10^{-3}$	0,09	
С олеиновой кислотой	$0,74 \cdot 10^{-3}$	0,10	
Хлорофилл (a + b)			
Без субстрата	$0,47 \cdot 10^{-3}$	—	
С аскорбиновой кислотой	$0,40 \cdot 10^{-3}$	0,12	
С олеиновой кислотой	$0,46 \cdot 10^{-3}$	0,10	

Чтобы выяснить, активно ли при сенсibilизации электронное возбужденное состояние, определяющее флуоресценцию, или длительно-возбужденное состояние, ставились опыты тушения флуоресценции растворов пигментов аскорбиновой кислотой. С олеиновой кислотой подобные опыты не проводились вследствие ее поглощения в близком ультрафиолете. Измерялась флуоресценция спиртовых растворов пигментов той же концентрации, с которой велись манометрические опыты. Введением кристаллической аскорбиновой кислоты ее концентрация в растворе доводилась до $0,5\%$. В пределах точности измерения ($\pm 2\%$) тушения флуоресценции не наблюдалось. Измерение производилось на фотоэлектрическом флуорометре Колемана (модель 12). На отсутствие измеримого тушения флуоресценции пигментов кислородом воздуха было указано в предыдущем сообщении одного из нас (⁴).

Из рассмотрения экспериментальных данных можно сделать следующие заключения:

1. Отсутствие явно выраженной температурной зависимости указывает на то, что скорость реакции определяется фотохимической стадией, вероятно, идущей через промежуточное образование свободных радикалов.
2. Эффективность сенсibilизации имеет величину одного порядка у хлорофилла, способного к кетоэнольной таутомерии, и у фталоцианина магния, не обладающего лабильными атомами водорода, что свидетельствует о малой вероятности гипотезы „активного таутомера“ (⁵). Более вероятно бирадикальная природа фотоактивированного состояния сенсibilизатора (⁶).
3. Из данных табл. 1 видно, что в присутствии аскорбиновой кислоты уменьшается фотоокисление пигмента-сенсibilизатора; это связано с восстановлением окисленной формы пигмента, что было показано опытами одного из нас (⁴).

При сенсibilизированном окислении олеиновой кислоты в присутствии фталоцианина магния наблюдается большее разрушение пигмента, чем в опыте без олеиновой кислоты. Это объясняется вторичным темновым разрушением пигмента образующимися перекисными соединениями; хлорофилл при этом более устойчив (⁷). При кратковременном освещении растворов пигментов с олеиновой кислотой удается наблюдать ее защитное действие, наиболее явно в опытах

с фталоцианином магния. Кроме того, можно было также констатировать возможность восстановления продуктов фотоокисления фталоцианина магния олеиновой кислотой (⁴); у хлорофилла подобный эффект наблюдать не удалось. Вероятно, это связано с различной устойчивостью промежуточных продуктов окисления обоих пигментов.

4. Исследованные пигменты сенсibiliзируют оба изученных типа окисления. Механизм сенсibiliзации, предложенный Вейссом (⁸) и

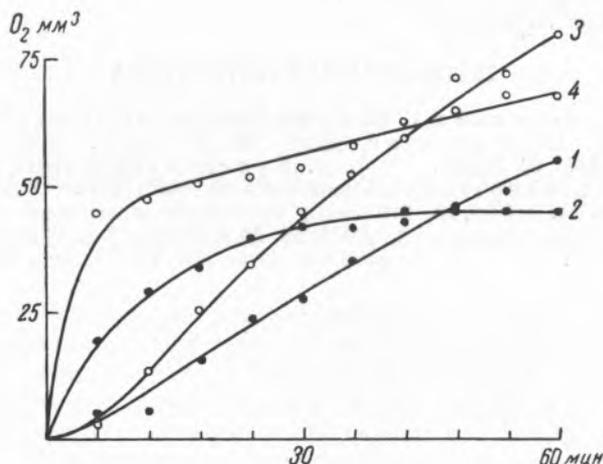


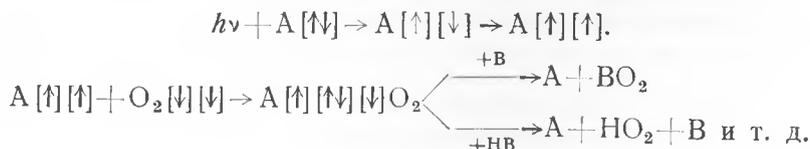
Рис. 1. Ход сенсibiliзированного окисления; 1—фталоцианин магния с аскорбиновой кислотой; 2—фталоцианин магния с олеиновой кислотой; 3—хлорофилл a+b с аскорбиновой кислотой; 4—хлорофилл a+b с олеиновой кислотой

Франком и Ливингстоном (⁵), не охватывает оба типа исследованных реакций, так как:

а) рассматривает фотосенсibiliзированное окисление как дегидрирование, тогда как возможно окисление по Баху—Энглеру через образование перекиси;

б) оперирует с представлением о промежуточном образовании семихинона красителя, что для порфиринов требует экспериментальных подтверждений.

Установленное образование лабильных продуктов окисления исследованных пигментов (^{4,7}) позволяет предположить механизм, в основе которого лежит реакция восстановления субстратом обратимо-образующейся активной перекиси пигмента по схеме (применяя символику Теренина (⁶) для обозначения спинов электронов, где А—молекула пигмента, В—олеиновой кислоты, НВ—аскорбиновой кислоты):



Дальнейшее окисление олеиновой кислоты, вероятно, идет по цепному механизму, на что указывает вид кинетической кривой.

Следует считать также возможным стимулирование перехода молекулы субстрата из основного в бирадикальное состояние под влиянием магнитного момента фотохимически образованного бирадикала (⁹).

Такой „вторично“ образованный радикал будет способен к самопроизвольному окислению либо за счет присоединения кислорода, либо за счет отделения электрона и протона. Вопрос о механизме процесса будет подробнее рассмотрен в другом месте.

Приносим глубокую благодарность академику 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

- ¹ А. А. Красновский и Г. П. Брин, ДАН, **53**, 447 (1946). ² В. Б. Евстигнеев и А. А. Красновский, ДАН, **58**, № 3 (1947). ³ G. Maskipney, J. Biol. Chem., **132**, 91 (1940). ⁴ А. А. Красновский, ДАН, **58**, № 4 (1947). ⁵ J. Frank, R. Livingston, J. Chem. Phys., **9**, 184 (1941). ⁶ А. Н. Теренин, Acta Physicochimica. URSS, **18**, 210 (1943); Фотохимия красителей, изд. АН СССР, 1947. ⁷ А. А. Красновский, ДАН, **58**, № 5 (1947). ⁸ J. Weiss, Trans. Farad. Soc., **35**, 48 (1939). ⁹ А. Н. Теренин, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3 (1947).