

В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ, В. А. ГАВРИЛОВА и А. А. КРАСНОВСКИЙ

## ВЛИЯНИЕ ПОСТОРОННИХ МОЛЕКУЛ НА СПЕКТР ПОГЛОЩЕНИЯ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ФТАЛОЦИАНИНА МАГНИЯ И ХЛОРОФИЛЛА В РАСТВОРЕ

(Представлено академиком А. Н. Терениным 3 XI 1949)

В предыдущем сообщении <sup>(1)</sup> нами были описаны опыты, показавшие влияние выкачивания и впуска воздуха на спектр поглощения и флуоресценцию растворов хлорофилла в толуоле. При выкачивании воздуха из трубки Тунберга, содержащей раствор хлорофилла, интенсивность флуоресценции последнего уменьшалась и снова возрастала при впуске воздуха; одновременно обратимо изменялся спектр поглощения. Дальнейшие опыты показали, что ослабление интенсивности флуоресценции при эвакуации воздуха тем больше, чем чище был использованный для приготовления раствора толуол. В случае применения толуола, очищенного взбалтыванием с  $H_2SO_4$  и последующей перегонкой над металлическим натрием, интенсивность флуоресценции уменьшалась в 3,5—4 раза (с 40—45 до 10—11 относительных единиц).

Это действие было объяснено нами влиянием кислорода воздуха. Однако последующее изучение этого явления показало, что наблюдаемый эффект не может быть отнесен лишь за счет кислорода\*, а главным действующим началом являются пары воды, присутствующие в воздухе. Это было установлено в результате следующих опытов: содержащийся в трубке Тунберга раствор хлорофилла (a + b) в толуоле эвакуировали в течение 3 мин. при сильном взбалтывании. После измерения интенсивности флуоресценции и снятия спектра поглощения в трубку впускали кислород (полученный из перекиси водорода реакцией с  $K_2Cr_2O_7$ ), тщательно высушенный пропусканием через крепкую  $H_2SO_4$ , две колонки с обезвоженным силикагелем, трубку с твердым КОН и ловушку, охлажденную до  $-130$ — $-140^\circ$ . Перед впуском кислорода воздух из всех соединительных трубок выкачивался вакуумным насосом. Оказалось, что сухой кислород (при давлении 1 атм.) в пределах ошибки измерения не оказывает действия на флуоресценцию и вид спектра поглощения раствора хлорофилла в сухом толуоле. Впуск кислорода, высушенного вышеописанным образом, а затем увлажненного приводил к усилению интенсивности флуоресценции, как это было ранее описано <sup>(1)</sup>.

Для выяснения роли влаги независимо от кислорода в боковой отвод пробки трубки Тунберга вводили 2—3 капли дистиллированной воды и содержащийся в трубке толуоловый раствор хлорофилла эвакуировали обычным образом. Флуоресценция сразу после откачивания оказывалась

\* Тем не менее сухой кислород, по данным В. Ф. Гачковского, полученным в нашей лаборатории, способен повышать флуоресценцию адсорбатов хлорофилла и фталоцианина в вакуумных условиях.

значительно меньшей, чем начальная, но достаточно было взболтать раствор, чтобы пары воды могли продиффундировать в него, и флуоресценция сразу повышалась в 4—4,5 раза. Такое же явление наблюдалось, если пары воды вводились в эвакуированную трубку Тунберга путем нагревания нескольких кристаллов  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , помещенных заранее в боковой отвод.

Интенсивность флуоресценции в присутствии паров воды без кислорода оказывалась на 15—20% выше, чем в присутствии последнего. Если, например, при впуске влажного кислорода интенсивность флуоресценции данного раствора повышалась с 11 до 39—40 относительных единиц, то в присутствии только воды интенсивность флуоресценции доходила до 49—50.

Отсюда следует, что молекулярный кислород тушит флуоресценцию хлорофилла в присутствии влаги также и в толуоловом растворе, как это известно для растворов хлорофилла в полярных растворителях (2).

Это было подтверждено опытом с последующим впуском кислорода в эвакуированную трубку Тунберга, содержащую капли воды в отводе. Флуоресценция после взбалтывания раствора для насыщения кислородом падала с 49—50 единиц до обычных 39—40. Действие воды не является специфичным. Такое же действие оказывают сухие пары спирта и прибавка ряда полярных веществ: пиридина, ацетона, анилина и др., на что уже указывалось в предыдущем сообщении. Чтобы объяснить отсутствие тушения флуоресценции эвакуированного толуолового раствора хлорофилла сухим кислородом, можно выдвинуть предположение, что наблюдаемый результат является следствием наложения противоположных эффектов, активирующего флуоресценцию и тушащего действия кислорода. Следует поэтому допустить, что кислород обладает все же способностью воздействовать на молекулу хлорофилла подобно воде, хотя и в значительно более слабой степени.

По вопросу о механизме действия веществ, увеличивающих флуоресценцию хлорофилла, могут быть выдвинуты различные точки зрения.

Ливингстон и сотр., недавно опубликовавшие работу (3) по влиянию влажности на флуоресценцию хлорофилла в ряде растворителей (главным образом, в бензоле), выдвинули как наиболее вероятное предположение, что в инертных растворителях молекула хлорофилла вообще не флуоресцирует и только присоединение „активаторов“ по месту циклопентанового кольца молекулы хлорофилла посредством водородной связи дает флуоресцирующую форму.

В предыдущем сообщении мы высказали предположение о координационной связи активирующей добавки с центральным атомом магния молекулы хлорофилла. Это предположение нашло подтверждение в наших опытах с феофитином, фталоцианином и его Mg-комплексом.

Растворы феофитина (отличающиеся от хлорофилла только отсутствием Mg) в толуоле, как показывают цифры табл. 1, не меняют ни интенсивности флуоресценции, ни спектра поглощения при выкачивании и впуске воздуха, несмотря на то, что в молекуле феофитина имеется циклопентановое кольцо. Для получения феофитина в водно-спиртовые растворы хлорофилла вводили уксусную кислоту при слабом нагревании. Феофитин экстрагировали эфиром. Эфирный экстракт промывали водой, сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и испаряли досуха. Остаток растворяли в толуоле и феофитин идентифицировали по его спектру поглощения.

Фталоцианин магния не имеет циклопентанового кольца и, однако, раствор его в толуоле показывает поведение, подобное хлорофиллу. Получение толуолового раствора фталоцианина магния достаточной

для опыта концентрации было связано с известными затруднениями так как это соединение практически нерастворимо в неполярных растворителях, что, повидимому, связано с наличием в его составе двух молекул прочно связанной воды (4). Поэтому для приготовления раствора мы использовали следующий прием. Сначала фталоцианин Mg растворяли в эфире, в котором легко получить требующуюся для опыта концентрацию, и эфирный раствор смешивали с толуолом. Эфир испаряли из смеси при нагревании на водяной бане и затем под вакуумом. Этим способом удавалось получить стойкие растворы фталоцианина Mg в толуоле с поглощением в красном максимуме  $E_{672\text{м}\mu} = 1,3$  и выше.

В табл. 1 приведены цифры, показывающие изменение флуоресценции и величины поглощения для фталоцианина магния.

Флуоресценция и спектр поглощения толуолового раствора фталоцианина без металла, отличающегося от магниевого комплекса только отсутствием магния, не изменяются при выкачивании и впуске воздуха (см. соответствующие цифры в табл. 1).

На рис. 1 приведены результаты одного из опытов, в котором применялся толуоловый раствор смеси фталоцианина без металла и фталоцианина магния. Эти соединения обладают спектрами поглощения, резко отличающимися друг от друга (5,6), что позволило по кривым поглощения независимо судить об их изменениях.

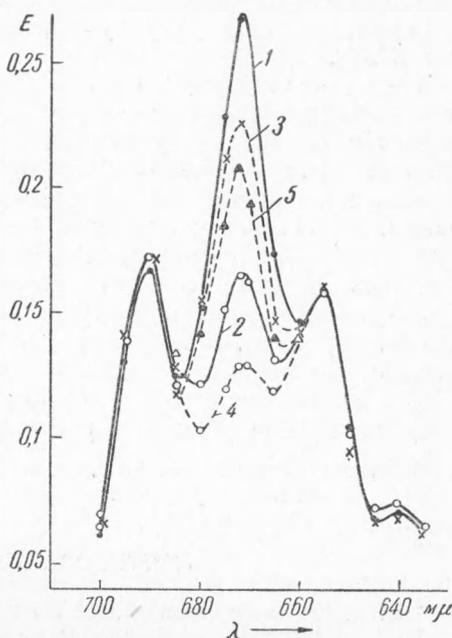


Рис. 1. Изменение спектра поглощения раствора смеси фталоцианина без металла и фталоцианина магния в толуоле при выкачивании и впуске воздуха: 1 — начальный раствор, 2 — после 1-го выкачивания, 3 — после впуска воздуха, 4 — после повторного выкачивания, 5 — после повторного впуска воздуха

Таблица 1

Изменение интенсивности флуоресценции и величины поглощения при выкачивании и впуске воздуха

| Соединение, растворенное в толуоле | Интенсивность флуоресц. в относит. единицах |                        |                      | Величина коэфф. погашения в максимуме |                        |                      |                                 |
|------------------------------------|---|------------------------|----------------------|---------------------------------------|------------------------|----------------------|---------------------------------|
|                                    | начальная                                   | после выкачив. воздуха | после впуска воздуха | начальная                             | после выкачив. воздуха | после впуска воздуха | положение максим. поглощения мμ |
| Фталоцианин Mg                     | 49  | 27                     | 45                   | 0,700                                 | 0,314                  | 0,557                | 672                             |
| То же . . . . .                    | 30  | 23                     | 30                   | 0,268                                 | 0,165                  | 0,226                | 672                             |
| » » . . . . .                      | 27  | 19                     | 36                   | 0,186                                 | 0,095                  | 0,200                | 672                             |
| Фталоцианин без металла . . . . .  | 21  | 22                     | 22                   | 0,327                                 | 0,300                  | 0,290                | 690                             |
| Феофитин (a+b)                     | 30  | 31                     | 32                   | 0,900                                 | 0,895                  | 0,892                | 670                             |
| То же . . . . .                    | 24  | 27                     | 28                   | 0,345                                 | 0,346                  | 0,341                | 670                             |

По кривым рис. 1 легко видеть, что максимумы при 690 и 655 м $\mu$ , принадлежащие фталоцианину без металла, почти не меняются, тогда как поглощение в максимуме кривой фталоцианина магния 672 м $\mu$  резко уменьшается при выкачивании и опять увеличивается при впуске воздуха.

Полное подобие условий для обоих соединений в этих опытах позволяет отнести разницу в поведении только за счет центрального атома Mg.

На основании этих опытов следует предположить, что вещества, усиливающие флуоресценцию хлорофилла, координационно связываются с центральным атомом магния его молекулы. Вероятно, это приводит или к дезагрегации нефлуоресцирующих димерных молекул пигмента на флуоресцирующие мономеры или к образованию хлорофилла, связанного с полярной молекулой, обладающего в таком виде иным спектром поглощения и флуоресценцией.

Здесь уместно указать также на то, что координационная связь молекулы пиридина с центральным атомом магния молекулы хлорофилла, вероятно, определяет своеобразие его спектральных и фотохимических свойств в пиридиновых растворах (<sup>7,8</sup>).

В заключение приносим глубокую благодарность акад. А. Н. Теренину за ценные указания и помощь в работе.

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

Поступило  
24 X 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова и А. А. Красновский, ДАН, 66, 1133 (1949). <sup>2</sup> В. Б. Евстигнеев и А. А. Красновский, ДАН, 60, 623 (1948). <sup>3</sup> R. Livingston, W. Watson and J. McArdle, Journ. Am. Chem. Soc., 71, 1542 (1949). <sup>4</sup> R. P. Linstead and A. R. Lowe, Journ. Chem. Soc. (London), 1934, 1022. <sup>5</sup> В. Б. Евстигнеев и А. А. Красновский, ДАН, 58, 417 (1947). <sup>6</sup> В. Б. Евстигнеев и А. А. Красновский, ДАН, 58, 1399 (1947). <sup>7</sup> А. А. Красновский, ДАН, 60, 421 (1948). <sup>8</sup> А. А. Красновский, Г. П. Брин и К. К. Войновская, ДАН, 69, № 3 (1949).