

А. А. ГУРЕВИЧ

О КАТАЛИТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ХЛОРОФИЛЛ-ГЕМИНА И ЖЕЛЕЗА НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНУЮ РЕАКЦИЮ

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 30 XI 1948)

Как мной было показано (1), окислительно-восстановительная реакция переноса водорода от фенилгидразина к *o*-динитробензолу фотосенсибилизуется хлорофиллом, который в данном случае играет роль "фотодегидразы". Эта реакция является самопроизвольной; она требует для своего осуществления лишь преодоления энергетического барьера активации.

Поэтому возможно, что обладающий значительной каталитической активностью хлорофилл-гемин (2), весьма близкий хлорофиллу, проявит себя и в этом случае как катализатор и вызовет без участия света данную окислительно-восстановительную реакцию. Действительно, опыт подтвердил наше предположение.

Дериват хлорофилл-гемина был приготовлен из хлорофилла путем замещения в нем магния железом. Исходным материалом служила темнозеленая спиртовая вытяжка, полученная из сухих листьев крапивы. Из нее при добавлении нескольких капель соляной кислоты получался феофитин, в который затем, по методу Залесского (3), вводилось железо. Для этого к раствору феофитина добавлялся раствор уксуснокислого железа в уксусной кислоте. Смесь растворов нагревалась на кипящей водяной бане до исчезновения бурой и появления зеленой окраски (или несколько продолжительнее). Уксуснокислое железо приготавливалось путем растворения металлического железа (фортепианной проволоки) в концентрированной уксусной кислоте при нагревании на кипящей водяной бане. Затем темнозеленый дериват хлорофилл-гемина переводился в бензин и отделялся от спиртового слоя, содержащего уксуснокислое железо, при помощи делительной воронки. Бензин выпаривался, а хлорофилл-гемин растворялся в этиловом спирте. Приготовленный таким образом темнозеленый спиртовой раствор деривата хлорофилл-гемина служил для каталитических опытов.

Опыты ставились при комнатной температуре в пробирках, затемненных черной бумагой; продолжительность их от 30 мин. до нескольких часов. В качестве донатора водорода был использован фенилгидразин в форме свободного основания. Акцептором водорода служил *o*-динитробензол, растворенный до насыщения в этиловом спирте. Присоединяя водород, *o*-динитробензол восстанавливается в *o*-нитрофенилгидроксиламин, который в щелочной среде образует соль фиолетовой окраски и поэтому легко может быть обнаружен (4).

Для опыта в пробирку вносилось 2 мл спиртового раствора деривата хлорофилл-гемина, 3 капли фенилгидразина (свободное основа-

ние), 0,3 мл насыщенного спиртового раствора *o*-динитробензола и 1 капля водного раствора аммиака. Растворы смешивались; при этом под воздействием фенилгидразина зеленая окраска хлорофилл-гемина переходит в коричневую. Аммиак, придавая среде щелочную реакцию, служит для обнаружения *o*-нитрофенилгидроксиламина, а также значительно ускоряет данную каталитическую окислительно-восстановительную реакцию.

Уже через 30 мин. подопытный раствор приобретает темнофиолетовый цвет, который в более толстом слое жидкости представляется вишнево-красным. Эта окраска особенно сильно проявляется немедленно после добавления к подопытному раствору примерно 1 мл воды. При подкислении раствора фиолетовый цвет его переходит в желтый, а при подщелачивании появляется вновь. Эта окраска свидетельствует о присутствии *o*-нитрофенилгидроксиламина, возникшего из *o*-динитробензола путем его восстановления.

Контрольные опыты показали, что образование *o*-нитрофенилгидроксиламина происходит только в присутствии трех компонентов окислительно-восстановительной системы: донатора водорода — фенилгидразина, акцептора водорода — *o*-динитробензола и катализатора — деривата хлорофилл-гемина. В отсутствие одного из этих компонентов данная окислительно-восстановительная реакция не имеет места. Но в сильно оводненной щелочной среде реакция восстановления *o*-динитробензола в *o*-нитрофенилгидроксиламин идет за счет окисления фенилгидразина и без участия катализатора. Аналогичное испытание феопитина, полученного вышеуказанным способом, не обнаружило у него каталитических свойств.

Дальнейшими опытами было установлено, что роль катализатора данной окислительно-восстановительной реакции способно играть также железо, растворенное в этиловом спирте в виде хлорного железа. Выполнение этих опытов соответствовало вышеописанным с тем лишь отличием, что катализатором в них служил не хлорофилл-гемин, а хлорное железо в спиртовом растворе, взятом в том же объеме — 2 мл.

Испытание показало, что по каталитическому действию примененному раствору хлорофилл-гемина несколько уступает 0,05% спиртовой раствор хлорного железа.

Ввиду того что соль железа является катализатором исследуемой реакции, необходимо было убедиться в том, что каталитический эффект, наблюдающийся в присутствии деривата хлорофилл-гемина, действительно обусловлен этим последним соединением, а не возможной примесью соли железа или какого-либо другого вещества.

Для этого был приготовлен подопытный раствор в точном соответствии с вышеописанным, но только исходным материалом служила не спиртовая вытяжка из листьев, а чистый растворитель — этиловый спирт. Этот раствор не дал никакого каталитического эффекта.

В другом опыте была сделана попытка обнаружить посредством обычных реактивов присутствие восстановленного или окисленного ионного железа в подопытном растворе, содержащем хлорофилл-гемин и другие компоненты данной системы. Она дала отрицательный результат. Между тем, в 0,05% спиртовом растворе хлорного железа, уступающем по своему каталитическому действию раствору хлорофилл-гемина, присутствие железа легко обнаруживается даже в том случае, когда этот раствор в небольшом количестве добавляется к подопытному раствору с хлорофилл-гемином и другими его составляющими.

Приведенные выше результаты каталитических опытов с дериватом хлорофилл-гемина, полученным непосредственно из спиртовой вытяжки сухих листьев крапивы, были проверены и подтверждены

на препарате хлорофилл-гемина, приготовленном вышеописанным способом из кристаллического хлорофилла (a + b) *.

Таким образом, изложенные выше данные приводят к заключению, что хлорофилл-гемин в исследованной окислительно-восстановительной реакции играет роль дегидразы, осуществляя перенос водорода от одной органической молекулы к другой. Такое же участие принимает в этой каталитической реакции и ионное железо.

Следует отметить, что каталитическое действие ионного железа на окислительно-восстановительные реакции уже ранее было обнаружено другими авторами (^{5,6}), которые использовали в качестве акцептора водорода метиленовую синь, а как донатор водорода — цистеин и некоторые другие соединения.

Согласно теории дегидрирования, участие геминовых ферментов в окислительных процессах заключается в активировании водорода (^{7,8}). Приведенные в настоящей работе данные относительно активирования водорода под воздействием деривата хлорофилл-гемина находятся в соответствии с этим представлением.

Лаборатория физиологии
растений и микробиологии
Московской сельскохозяйственной академии
им. К. А. Тимирязева

Поступило
29 XI 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. А. Гуревич, ДАН, 59, 937 (1948). ² O. Warburg u. F. Kubowitz, Biochem. Z., 227, 184 (1930). ³ J. Zaleski, Z. physiol. Chem., 43, 11 (1904). ⁴ R. Kuhn u. F. Weygand, Ber., 69, B, 1969 (1936). ⁵ S. Toda, Biochem. Z., 172, 34 (1926). ⁶ D. C. Harrison, Biochem. J., 21, 335 (1927). ⁷ H. Wieland, Z. ang. Chem., 44, 579 (1931). ⁸ C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, Supplement, 2, 1939.

* За любезное предоставление кристаллического хлорофилла для моих опытов я выражаю О. П. Осиповой глубокую благодарность.