





reduktive Bildung eines Chlorophyllradikals beträchtlicher Stabilität (Halbstufenpotentialdifferenz zwischen beiden einelektronigen Stufen bei Chlorophyll-*a*: 0.45 V) und seine bevorzugte Adsorption verursacht. Demgegenüber ist der Verlauf der Polarogramme mit wasserhaltigen Grundlösungen oftmals komplizierter, zumal die zweite Hauptstufe deformiert wird und näher an die erste heranrückt (Abb. 1), die sich mit steigendem pH-Wert um ca. 60 mV/pH negativiert.

Die Lage der betreffenden Halbstufenpotentiale ( $\pi_{1/2}$ ) (in 60 % Isopropanol, Phosphatpuffer vom Ausgangs-pH-Wert 7, Bezugselektrode: NCE) erstreckt sich über einen breiten Potentialbereich, wobei darauf hinzuweisen ist, dass sich die Aldehydgruppe von Chlorophyll-*b* infolge Hydratisierung nicht gesondert bemerkbar macht.

	$(\pi_{1/2})_1(V)$	$(\pi_{1/2})_2(V)$	$(\pi_{1/2})_3(V)$
Chlorophyll- <i>a</i>	—0.85	—1.3	—1.5
Chlorophyll- <i>b</i>	—0.85	—1.35	—1.55
Bakteriochlorophyll	—0.70	—1.05	—1.55

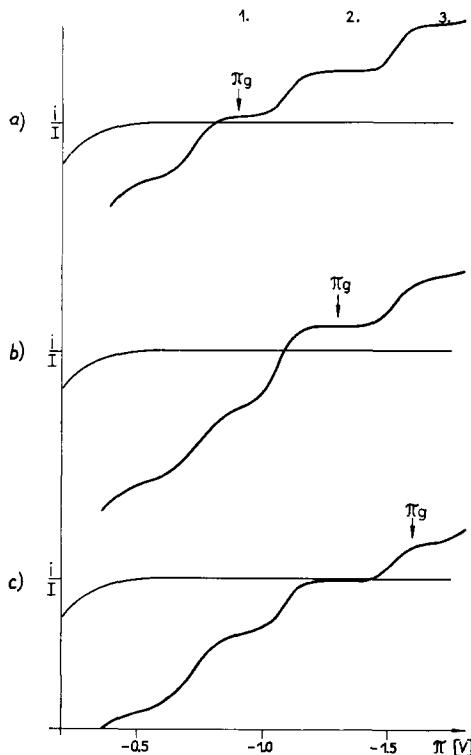


Abb. 2. Umschalter-Polarogramme von Chlorophyll-*a* ( $2 \cdot 10^{-4}$  M in 100 % Dimethylsulfoxid—0.04 M LiCl) mit unterschiedlichen Einstellungen des Generierungspotentials  $\pi_g$ . (a) Das Generierungspotential ist auf den Grenzstrom der Vorstufe (1.) eingestellt ( $\pi_g = -0.9$  V). (b) Das Generierungspotential ist auf den Grenzstrom der ersten Hauptstufe (2.) eingestellt ( $\pi_g = -1.4$  V). (c) Das Generierungspotential ist auf den Grenzstrom der 2. Hauptstufe (3.) eingestellt ( $\pi_g = -1.6$  V).

Daher sind auch die Umschalter-Polarogramme in "wasserfreiem" Dimethylsulfoxid am ausgeprägtesten. Die Einstellung des konstanten Generierungspotentials erfolgte einzeln auf die kleine Vorstufe  $i_1$  und beiden Hauptstufen  $i_2$  und  $i_3$  (Abb. 2), wodurch partielle Reduktionen während einer Umschalthalbperiode ausgelöst werden. Das während der Registrierperiode gewonnene Polarogramm zeigt die Oxydationsströme der reversibel oder irreversibel reoxydierbaren Elektrodenprodukte an. Bei den Generierungspotentialen  $\pi_g$  werden folgende Oxydationsströme  $I$  gefunden und zwar:  $\pi_g$  auf der Vorstufe  $i_1$  (Abb. 2a): relativ hoher reversibler Oxydationsstrom  $I_1$ ;  $\pi_g$  auf der Hauptstufe  $i_2$  (Abb. 2b):  $I_1$  und der reversible Oxydationsstrom  $I_2$ ;  $\pi_g$  auf der Hauptstufe  $i_3$  (Abb. 2c):  $I_1 + I_2$ .  $I_1$  verhält sich so ähnlich wie die bekannte Vorstufe bei Methylenblau. Seine Höhe wird in nichtwässrigem Medium durch Temperatur- oder Umschaltfrequenzeinflüsse weniger geändert als in wässrigem. Die Differenz zwischen den Halbstufenpotentialen von  $I_1$  und  $I_2$  ist mit 0.3 V (Dimethylsulfoxid) und 0.4 V (wässriges Aceton) jedoch grösser als beim Methylenblau 0.25 V (Wasser).

$I_2$  nimmt mit steigender Temperatur in wässriger Lösung stark ab und wächst mit steigender Frequenz stärker an als die entsprechende Oxydationsstufe des stabilen Perinaphthenonradikals (bei pH 13), wie aus den Relativwerten (in Klammern die für Perinaphthenon) deutlich wird.

$$\frac{I_2}{i_2} = \frac{1 (1)}{2.9 (1.4)} \quad 3.4 (1.8)$$

1.6 Hz	5.5 Hz	9.2 Hz
--------	--------	--------

Der Wassergehalt in der Grundlösung wirkt sich auf Höhe und Steilheit von  $I_2$  ungünstig aus.

## DISKUSSION

Das negative Radikal des Chlorophylls wurde reduktiv generiert, um seine charakteristischen Eigenschaften studieren zu können. Seine Reoxydation unter Abgabe eines Elektrons verläuft in zwei reversiblen Stufen ( $I_1$  und  $I_2$ ), und zwar zuerst aus dem adsorbierten Zustand und anschliessend als freies Radikal. Aus der Umkehrung der Höhenverhältnisse von den Oxydations-( $I$ ) und Reduktions-( $i$ )-strömen

$$\frac{I_1}{I_2} \gg \frac{i_1}{i_2} \quad (1)$$

lässt sich aus dem Vergleich zur umgeschalteten Adsorptionsstufe von Methylenblau schliessen, dass die an der Elektrodenoberfläche adsorbierten Chlorophyllradikale gegenüber denen in der Diffusionsschicht verweilenden stabilisiert werden. Aus dem Frequenzgang für  $I_2/i_2$  lässt sich weiterhin abschätzen, dass die Halbwertszeit  $\tau_{1/2}$  des Radikals im Bereich 0.1 >  $\tau_{1/2}$  > 0.01 sec liegt. Eine quantitative Bestimmung von  $\tau_{1/2}$  unter den verschiedenen Bedingungen, insbesondere Temperaturabhängigkeit, wird jedoch erst mit Hilfe der oszillographischen Umschalttechnik<sup>8</sup> möglich. Vorläufige Bestimmungen ergaben einen Näherungswert ≈ 0.11 sec an der oberen Grenze. Für das reduktive Chlorophyll-Radikal stehen bisher kaum Vergleichsdaten aus anderen Untersuchungen zur Verfügung. Dennoch kann der  $\tau_{1/2}$ -Wert<sup>1</sup> des photochemisch generierten Chlorophyll-*a*-Radikals ( $10^{-6}$  M in Gegenwart von Askorbinsäure und

Pyridin, 1 % Wasser; 20°) zum Vergleich herangezogen werden. Aus der nach Blitzbelichtung resultierenden Absorptionsänderung bei 435 nm wurde für  $\tau_{1/2} = 0.05$  sec ermittelt. Zieht man in Betracht, dass bei der Potential-Umschaltmethode die adsorbierten Radikale auf Grund ihrer höheren Lebensdauer mitbestimmend sind, so darf man annehmen, dass es sich in beiden Fällen um das gleiche Radikal handelt. Es erhebt sich nun die Frage nach dem Mechanismus der Elektrodenreaktion einerseits und der Weiterreaktion des Radikals andererseits.

## Die Elektrodenreaktion

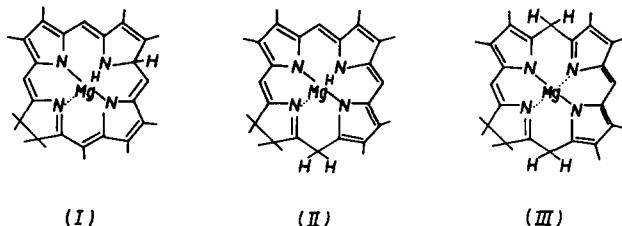
Für den Molekülteil, in dem das 1. Elektron aufgenommen wird, gibt es mehrere Möglichkeiten. Aus dem Vergleich mit Chlorophyllinen geht hervor, dass der Ring V keine so entscheidende Rolle als Akzeptor spielen kann. Am wahrscheinlichsten hebt das erste Elektron zunächst eine Doppelbindung an einem Heteroatom auf, wie es in den allermeisten Fällen bei reversiblem Teilverlauf gefunden wurde und ist dann im gesamten Konjugationssystem delokalisiert.



In wässrigen Lösungen wird schliesslich noch ein Proton addiert. Erst danach führt das zweite Elektron zur Unterbrechung der Gesamtkonjugation und zur Bildung einer Dihydroverbindung.

## Die Radikalreaktion

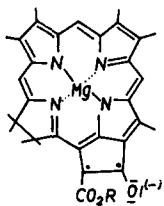
In einem inerten Lösungsmittel wäre eine Radikaldisproportionierung 2. Ordnung als Weiterreaktion zu erwarten. Vom Chlorin ausgehend sind grundsätzlich 3 Produkte mit ihren Isomeren zu diskutieren:



In jedem Fall wird die Gesamtkonjugation unterbrochen. Nach SEELY UND FOLKMANIS<sup>10</sup> spricht das Spektrum für die Strukturen (II) oder (III), wobei in Gegenwart von  $Mg^{2+}$  die Form (III) angenommen wird. CLOSS<sup>11</sup> formuliert dagegen trotz Anwesenheit eines Zentralatoms ( $Zn^{2+}$  oder  $Mg^{2+}$ ) bei seiner Untersuchungsreihe an Tetraphenylporphinen aufgrund von Kernresonanzspektren eine Phlorin-Struktur analog (II). JÄGER<sup>12</sup> bewies für in schwerem Wasser coulometrisch reduzierte Chlorine aufgrund von Kernresonanzspektren die Struktur (II). Da er beim Potential der ersten Stufe an einer grossen Fläche elektrolysierte, isolierte er das Disproportionierungsprodukt (II):



so dass noch nicht einwandfrei feststeht, ob das Reduktionsprodukt beim Potential der 2. Stufe ebenfalls mit (II) identisch ist oder zunächst Struktur (I) entsteht. Demgegenüber haben FELTON, SHERMAN UND LINSCHITZ<sup>13</sup> spektroskopische Hinweise, dass bei elektrolytischer Reduktion von Chlorophyll in Dimethylsulfoxid unter Abspaltung eines H-Ions das bekannte Phasentestprodukt (IV) entsteht. Da letzterer Vorgang im Gegensatz zu (3) pseudomonomolekular ablaufen müsste, ist eine Entscheidung über den Mechanismus der chemischen Radikalreaktion und damit zwischen (II) und (IV)



(IV)

auch von kinetischer Seite zu erwarten. Soviel steht nunmehr fest, dass vorliegendes reduktive Chlorophyllradikal in wasserhaltigen Lösungen instabiler (Halbstufenzahlendifferenz 0.25 V) als in nichtwässrigen ist (Halbstufenzahlendifferenz 0.43 V) und allgemein eine wesentlich kürzere Halbwertszeit aufweist, als das oxydativ<sup>4</sup> entstandene, welches im Photosyntheszyklus die bedeutendere Rolle zu spielen scheint.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der polarographischen Umschaltertechnik nach KALOUSEK wird das Chlorophyll-Radikal durch reversible Addition eines Elektrons generiert. In wasserhaltigen Grundlösungen wird außerdem ein Proton aufgenommen. Das Radikal adsorbiert sich an der Elektrodenoberfläche.

Aus dem Oxydationsstrom in Abhängigkeit von der Umschaltfrequenz liess sich die Radikal-Lebensdauer abschätzen. Ein plausibler Reduktionsmechanismus wird diskutiert.

#### LITERATUR

- 1 G. ZIEGER UND H. T. WITT, *Z. Physik. Chem. Frankfurt*, 28 (1961) 286.
- 2 A. A. KRASNOVSKY, in B. CHR. CHRISTENSEN AND B. BUCHMANN, *Progress in Photobiology*, Elsevier, Amsterdam-London-New York-Princeton, 1961, S. 561.
- 3 S. S. BRODY, G. NEWELL UND T. CASTNER, *J. Phys. Chem.*, 64 (1960) 554.
- 4 A. STANIENDA, *Z. Physik. Chem. Leipzig*, 229 (1965) 257.
- 5 H. BERG, *Tagungsbericht Biophysik (Wien)*, 14-16 Sept., 1964.
- 6 K. KRAMARCYK UND H. BERG, *III. Jena. Symp. (1965)*, *Elektrochemische Methoden und Prinzipien in der Molekular-Biologie*, Akad. V. Berlin, 1966, S. 363.
- 7 M. KALOUSEK, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 13 (1948) 105.
- 8 H. BERG, E. BAUER UND D. TRESSELT, in I. S. LONGMUIR, *Advances in Polarography*, Pergamon Press, Oxford-London-New York-Paris, 1960, Bd. 1, S. 382.
- 9 R. KOOPMAN, *Ber. Bunsenges. Physik. Chem.*, 70 (1966) 121.
- 10 G. R. SEELY UND A. FOLKMANIS, *J. Am. Chem. Soc.*, 86 (1964) 2763.
- 11 G. L. CLOSS UND L. E. CLOSS, *J. Am. Chem. Soc.*, 85 (1963) 818.
- 12 P. JÄGER, Dissertation an der Technischen Hochschule zu Braunschweig, 1965.
- 13 R. FELTON, G. M. SHERMAN UND H. LINSCHITZ, *Nature*, 203 (1964) 637.