

РЕАКЦИЯ ОБРАТИМОГО ФОТОХИМИЧЕСКОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА, ЕГО АНАЛОГОВ И ПРОИЗВОДНЫХ

A. A. Красновский

СОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	736
I. Изучение реакций обратимого фотовосстановления	737
1. Спектрофотометрические измерения	737
2. Структура пигмента и способность к реакции	741
3. Сравнение свойств промежуточных форм, образующихся при фотовосстановлении и «темновом» восстановлении цинком	741
4. Изменения флуоресценции при реакции	741
5. Изменение окислительно-восстановительного потенциала E_0 при фотопреакции	742
6. Молекулы-восстановители (донары электрона), реагирующие с хлорофиллом и его аналогами	744
7. Влияние кислотно-основных свойств среды	745
8. Образование свободных радикалов при реакции фотовосстановления	746
9. Хемилюминесценция при обратных реакциях продуктов фотовосстановления хлорофилла	748
10. Об образовании предреакционных ассоциатов	749
11. Механизм фотовосстановления	749
II. Окислительно-восстановительные реакции, фотосенсибилизированные хлорофиллом	751
III. Фотореакции коллоидных растворов хлорофилла	753
IV. Фотохимические свойства хлорофилла в гранулах хлоропластов	754
V. Обратимые фотохимические превращения хлорофилла в живых листьях растений	754
VI. Реакция обратимого фотовосстановления и возможный механизм участия хлорофилла и его аналогов в фотобиологических процессах	755
1. Фотосинтез	756
2. Фотодинамическое действие порфиринов	756
3. Другие фотобиологические реакции	757
Заключение	757

ВВЕДЕНИЕ

Одним из путей, ведущих к познанию фотохимической стадии фотосинтеза, является изучение превращений пигментов растений под действием света. В 1948 г. нам удалось обнаружить способность хлорофилла и его аналогов к реакции обратимого фотохимического восстановления¹. Эта реакция сопровождается образованием активных фотопродуктов («запасающих» энергию квантов света), обратимо реагирующих после прекращения освещения с регенерацией исходной молекулы пигмента. Дальнейшие исследования показали, что реакция обратимого фотовосстановления лежит в основе фотосенсибилизирующего действия хлорофилла в растворах и может быть привлечена для объяснения механизма ряда фотобиологических процессов. За истекшие 10 лет изучению реакции фотовосстановления хлорофилла, его аналогов и производных были посвящены многие работы в СССР и за рубежом и ныне своевременно дать обзор этих исследований. Краткие сводки даны в предыдущих статьях автора².

В работах лаборатории фотобиохимии Института биохимии АН СССР проводилось сравнительное изучение свойств хлорофилла, его аналогов и производных, позволяющее выявить значение отдельных группи-

ровок молекул пигментов и природы центрального атома металла в проявлении фотохимических свойств. Исследовались пигменты, выделенные из различных организмов и очищенные при помощи хроматографии, а также пигменты в виде естественных белковых соединений непосредственно в биологических структурах (в суспензиях гранул и хлоропластов) и листьях растений.

Изучались хлорофилл *a* и *b* зеленых растений, бактериохлорофилл фотосинтезирующих бактерий,protoхлорофилл этиолированных листьев и оболочек семян тыквенных, соответствующие феофитины, различные порфирины, фикобилины и синтетические аналоги этих пигментов — фталоцианины. В этих работах были применены и разработаны методы выделения и хроматографической очистки перечисленных выше пигментов растений.

Все изученные пигменты отличаются характерными спектрами поглощения и флуоресценции, изменяющимися не только при химических превращениях пигментов, но и при изменении состояния их молекул — агрегации в коллоидные частицы, образовании координационных соединений и т. д. Поэтому в излагаемых ниже исследованиях применялись спектрофотометрические измерения в процессе реакции при помощи фотоэлектрических приборов. В наших работах широко применялась спектрофотометрия в вакуумных трубках, приспособленных для измерения на приборах Бекмана и СФ-4. Для изучения реакции в ряде работ применялись измерения спектров флуоресценции, фотопотенциала инертного электрода и фотопроводимости в реагирующей смеси. Образование свободных радикалов при реакции измерялось при помощи методов инициирования фотополимеризации и электронного парамагнитного резонанса.

Для изучения активных промежуточных продуктов реакции и расчленения отдельных стадий использовались следующие методические приемы: 1) применение сред, в которых стабилизуются промежуточные продукты реакции; мы нашли, что таким действием обладают органические основания; 2) применение низких температур, которое позволило изолировать фотостадию переноса электрона от последующих темновых стадий реакции; 3) применение дейтерированных доноров водорода, что позволило наряду с опытами при низких температурах изучить стадию переноса протона в реакции.

Все эти приемы применялись в сочетании с методами измерений, позволяющими следить за образованием фотопродуктов непосредственно во время освещения реагирующей системы и продуктов «переживающих» период освещения.

I. ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ ОБРАТИМОГО ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ

1. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ (см. рис. 1)

Хлорофилл. Кратковременное освещение красным светом пиридиновых растворов хлорофилла без доступа воздуха в присутствии восстановителя (аскорбиновой кислоты или фенилгидразина) приводит к образованию продукта фотовосстановления красного цвета с максимумом поглощения при 520—525 μ . При выключении света реакция идет обратно с регенерацией хлорофилла — возвращением зеленого цвета раствора — более быстро при введении окислителей — кислорода воздуха и др. 1, 2.

В качестве побочного процесса наблюдалась частичная феофитинизация, в особенности при избытке аскорбиновой кислоты и более длительном освещении. Обратимость реакции с хлорофиллом *a* была более полной, а из хлорофилла *b* при восстановлении в пиридине получались наряду с обратимо реагирующими соединениями продукты необратимого фотовосстановления 3.

Реакцию удавалось наблюдать также в спиртовых растворах в присутствии органических оснований — пиридина, никотина, фенилгидразина, гексаметилентетрамина и в пиридине в присутствии до ~50% воды^{3, 4}.

Продолжая эти исследования, Евстигнеев и Гаврилова⁵ показали, что в толуольном растворе хлорофилла фотовосстановливается фенилгидразином. В этих условиях была показана возможность фотовосстановления хлорофилла *b* с хорошей обратимостью. При понижении температуры до -40° чрезвычайно замедлялось образование красной фотовосстановленной формы хлорофилла.

Холт и Рабинович⁶, воспроизведя наши опыты, отметили, что цикл «фотовосстановление — обратная реакция» можно повторять многократно со все увеличивающимся количеством необратимо измененного хлорофилла. Линшитц и Вейссман⁷ наблюдали образование красной фотовосстановленной формы хлорофилла в фенилгидразине. Линч и Френч⁸ воспроизвели фотовосстановление хлорофилла в пиридине и обратили внимание на то, что реакцию удается наблюдать при добавлении 50% пиридина в водную взвесь хлоропластов. Раков и Кениг⁹, изучая реакцию фотовосстановления хлорофилла, указали, что при нарушении циклопентанонового кольца молекулы хлорофилла им не удалось наблюдать течения реакции, что, по их мнению, свидетельствует о необходимости этой группировки молекулы для реакции.

По-видимому, этот вывод не обоснован, так как ряд других аналогов и производных хлорофилла, не имеющих циклопентанонового кольца (порфирины, фталоцианин магния), полностью способны к фотовосстановлению.

Банистер¹⁰, изучая в своей диссертационной работе реакцию обратимого фотовосстановления

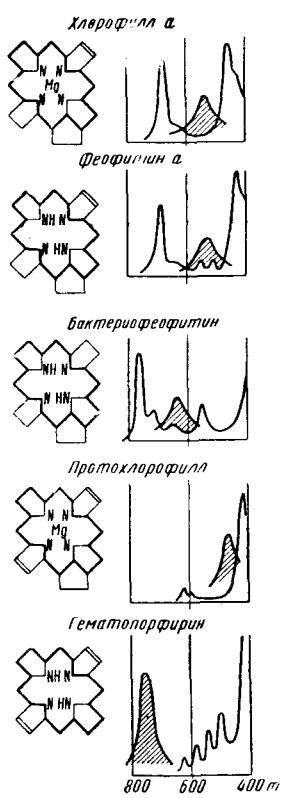


Рис. 1. Изменения спектров поглощения хлорофилла и его аналогов при фотовосстановлении аскорбиновой кислотой в пиридине² (структура молекул пигментов показана схематично); кривыми показан вид спектра поглощения пигмента до реакции и после обратной реакции; защищованы спектры поглощения промежуточных фотовосстановленных форм

хлорофилла, пришел к выводу, что реакция идет лишь при введении спирта или воды в пиридин, что способствует образованию аскорбат-иона, являющегося активным донором электрона. Квантовый выход образования «красной» восстановленной формы хлорофилла достигает 0,05 при 40% воды в пиридине; при фотопреакции также наблюдалась феофитинизация. В эфирных растворах, освобожденных от кислорода, хлорофилл фотовосстанавливается фенилгидразином в форму с максимумами поглощения при 410 и 520 м. В согласии с работами нашей лаборатории, Банистер приходит к выводу об участии в реакции не синглетного, а триплетного возбужденного состояния хлорофилла.

Феофитин. Мы наблюдали обратимое фотовосстановление феофитина с образованием «красной» формы, близкой по спектру к соответствующей форме хлорофилла³.

Детальные сравнительные исследования хлорофилла и феофитина были сделаны в работе Евстигнеева и Гавриловой, наблюдавших более быстрое восстановление феофитина¹¹. Эти авторы нашли, что при реакции в пиридиновом растворе при -40° феофитин образует промежуточ-

ный фотопродукт бурого цвета, переходящий при нагревании в красную фотовосстановленную форму ¹². Эта «первичная» восстановленная форма феофитина и других пигментов была детально изучена в работах Евстигнеева ¹³.

Этилхлорофиллид ведет себя подобно хлорофиллу, образуя «красную» восстановленную форму. Холт ¹⁴ отметил обратимое фотовосстановление хлорофиллда в присутствии версена.

Протохлорофилл и его производные. При фотовосстановлении аскорбиновой кислотойprotoхлорофилл образует фотопродукт коричневого цвета с максимумом поглощения при 470 $m\mu$, обратимо реагирующий (окисляющийся) с образованием зеленогоprotoхлорофилла ¹⁵. При этом не удается отметить образования хлорофилла, хотя долгое освещение ведет к образованию небольшого количества продукта с максимумом поглощения при 675 $m\mu$. Protoфеофитин также способен к обратимому фотовосстановлению. Нарушение циклопентанонового кольца этих соединений посредством пиперидина или спиртовой щелочи ведет к образованию порфинов, которые фотовосстановливаются подобно другим порфиринаам (см. ниже). В опытах Евстигнеева и Гавриловой, проведенных при -40° , были измерены спектры поглощения первичной фотовосстановленной формыprotoфеофитина, аналогичной по своим свойствам первичной форме феофитина ¹⁶.

Бактериохлорофилл и бактериофеофитин. Фотовосстановление бактериохлорофилла аскорбиновой кислотой в пиридине приводит к образованию фотопродуктов, не обладающих характерным спектром поглощения в видимой области спектра ¹⁷. Реакция идет глубже и более обратимо в более основных средах — в присутствии пиперидина, аммиака и фенилгидразина как восстановителя. С сернистым натрием реакция на воздухе быстро обратима и образуется продукт фотовосстановления зеленого цвета с максимумом при 660 $m\mu$.

Бактериофеофитин в этих условиях образует более устойчивый зеленый продукт фотовосстановления ¹⁷.

Бактериовиридин. Изучение ¹⁸ свойств пигмента зеленых серных бактерий, близкого по свойствам к хлорофиллу, показало что этот пигмент образует «красную» фотовосстановленную форму, похожую на продукт фотовосстановления хлорофилла *a*. Феофитин, полученный из бактериовиридина, также похож по своим свойствам на феофитин *a*, образуя первичную и вторичную фотовосстановленные формы. Бактериовиридин отличается от хлорофилла большей скоростью фотоокисления в растворе, что приближает его к бактериохлорофиллу, чрезвычайно быстро разрушающемуся при освещении.

Порфирины. Поведение протопорфирина, гематопорфирина, порфирина фотосинтезирующих бактерий и порфирина, полученного изprotoхлорофилла, оказалось сходным; различия наблюдались лишь в скорости прямых и обратных реакций ^{19, 20, 21}.

Фотовосстановление этих соединений мы изучали в органических растворителях и в водных кислых и щелочных растворах. В основаниях — пиперидине и пиридине — при реакции с аскорбиновой кислотой обычно образуется зеленый фотопродукт с максимумом поглощения при 640—660 $m\mu$, при пуске воздуха обратимо превращающийся в порфирин. В воде в присутствии 10% пиридина образуется фотопродукт с максимумом поглощения при 740—750 $m\mu$ ¹⁹. Оба соединения связаны условиями кислотно-основного равновесия, переходя друг в друга при изменении основности среды ²⁰. По-видимому, эти продукты отличаются условиями диссоциации карбоксильных групп порфирина.

В кислых водных растворах резко меняется вид спектра поглощения порфиринов из-за присоединения протонов атомами азота пиррольных ядер; при этом образуется промежуточный фотовосстановленный продукт с максимумом поглощения при 520 $m\mu$ ²¹ (см. рис. 2).

В случае проведения реакции и измерения при -40° наблюдалось образование «первичной» формы гематопорфирина с максимумом 450 $\text{m}\mu$ при нагревании частично переходящей в «зеленую» фотовосстановленную форму с максимумом поглощения при 650 $\text{m}\mu$ ¹⁶.

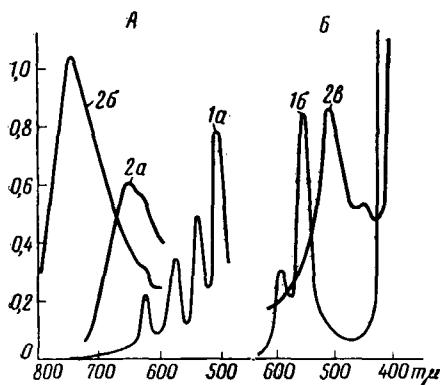


Рис. 2. Спектры поглощения фотовосстановленных форм гематопорфирина в основных кислых средах^{20, 21}

1 — спектр поглощения порфирина до фотовосстановления и после обратной реакции в темноте, А — в пиридине и этаноле, В — в 1 N H_2SO_4 , 2 — после фотовосстановления аскорбиновой кислотой; а — в пиридине, б — в смеси пиридин — спирт, в — в 1 N H_2SO_4

дит к последующему (после поглощения света) внутримолекульному переносу электрона от органического скелета молекулы к центральному атому железа, подвергающемуся при этом фотовосстановлению. Образующийся дефект заряда пополняется за счет окисления растворителя. Так как эти, следующие друг за другом, акты переноса электрона наступают немедленно вслед за актом поглощения света, то это приводит к значительному сокращению периода жизни возбужденного соединения. Это проявляется, по мнению авторов, в некотором расширении полос поглощения, исчезновении флуоресценции и колебательной структуры.

Мы наблюдали весьма медленное фотовосстановление цитохрома С под действием видимого света в анаэробных условиях и фотоокисление его восстановленной формы в присутствии воздуха^{25, 26}.

Фталоцианины. При освещении пиридинового раствора фталоцианина магния с аскорбиновой кислотой, наряду с образованием необратимо восстанавливющихся продуктов, удалось заметить стадию фотовосстановления, быстро обратимую в темноте²⁷.

Проводя реакцию при низкой температуре, Евстигнеев и Гаврилова наблюдали быстрое образование «красной» фотовосстановленной формы с максимумом 550 $\text{m}\mu$, мгновенно регенерирующейся в исходный фталоцианин при пуске воздуха²⁸. Так же, как и в случае хлорофилла, не удалось измерить спектр «первичной» фотовосстановленной формы этого соединения. Фталоцианин меди не способен к реакции этого типа.

Каротиноиды. В нашей лаборатории пытались наблюдать фотовосстановление β -каротина, ксантофилла, каротиноидов фотосинтезирующих бактерий в разных средах с разными восстановителями, но ни в каких условиях не смогли наблюдать образования обратимо реагирующих продуктов этих соединений²⁹.

Фикобилины. Фикоэрритрин красных водорослей и фикоциан не обладают ни способностью к этой реакции, ни фотосенсибилизирующими

Металлические комплексы хлорофилла и его аналогов. Мы не смогли наблюдать фотовосстановление медных комплексов феофитина, но обладающий флуоресценцией цинковый комплекс показал способность к фотовосстановлению в олигатах Востриловой и Дуловой²². Раков и Кениг⁹ указали на хорошую обратимость фотовосстановления этого соединения.

Дайн и сотрудниками^{23, 24} установили и детально изучили фотовосстановление железных комплексов хлорофилла; они предположили, что при реакции имеют место перенос электрона в комплексе Fe-хлорофилла с OH^- -ионами, молекулами воды, ионами металла-востановителя. Дайн и Ашкинази²⁴ предположили, что в возбужденном состоянии электронная система этих пигментов неустойчива, что приводит к последующему (после поглощения света) внутримолекульному переносу электрона от органического скелета молекулы к центральному атому железа, подвергающемуся при этом фотовосстановлению. Образующийся дефект заряда пополняется за счет окисления растворителя. Так как эти, следующие друг за другом, акты переноса электрона наступают немедленно вслед за актом поглощения света, то это приводит к значительному сокращению периода жизни возбужденного соединения. Это проявляется, по мнению авторов, в некотором расширении полос поглощения, исчезновении флуоресценции и колебательной структуры.

Мы наблюдали весьма медленное фотовосстановление цитохрома С под действием видимого света в анаэробных условиях и фотоокисление его восстановленной формы в присутствии воздуха^{25, 26}.

Фталоцианины. При освещении пиридинового раствора фталоцианина магния с аскорбиновой кислотой, наряду с образованием необратимо восстанавливющихся продуктов, удалось заметить стадию фотовосстановления, быстро обратимую в темноте²⁷.

Проводя реакцию при низкой температуре, Евстигнеев и Гаврилова наблюдали быстрое образование «красной» фотовосстановленной формы с максимумом 550 $\text{m}\mu$, мгновенно регенерирующейся в исходный фталоцианин при пуске воздуха²⁸. Так же, как и в случае хлорофилла, не удалось измерить спектр «первичной» фотовосстановленной формы этого соединения. Фталоцианин меди не способен к реакции этого типа.

Каротиноиды. В нашей лаборатории пытались наблюдать фотовосстановление β -каротина, ксантофилла, каротиноидов фотосинтезирующих бактерий в разных средах с разными восстановителями, но ни в каких условиях не смогли наблюдать образования обратимо реагирующих продуктов этих соединений²⁹.

Фикобилины. Фикоэрритрин красных водорослей и фикоциан не обладают ни способностью к этой реакции, ни фотосенсибилизирующими

действием ³⁰; делались попытки фотовосстановления эритробилина, полученного при кислотном гидролизе фикоэритрина, но это соединение также не оказалось способным к фотопреакции.

2. СТРУКТУРА ПИГМЕНТА И СПОСОБНОСТЬ К ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЮ

На основании изложенного материала мы приходим к заключению, что реакцию фотовосстановления удалось наблюдать у всех производных и аналогов хлорофилла, обладающих структурой хлорина, бактериохлорина и порфирина с центральными атомами водорода, магния или цинка.

Спектральные свойства и реакционноспособность восстановленных форм различных пигментов различны в разных средах. Магниевые комплексы обычно образуют более активные (быстрее обратимо реагирующие) восстановленные формы, чем безмагниевые феофитины.

Сопоставление способности к реакции и структуры различных пигментов указывает на то, что главным признаком, определяющим способность пигментов к реакции обратимого фотовосстановления, является наличие в молекуле пигмента системы сопряженных по кругу двойных связей, связывающих четыре пиррольных кольца.

3. СРАВНЕНИЕ СВОЙСТВ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФОРМ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИИ И «ТЕМНОВОМ» ВОССТАНОВЛЕНИИ ЦИНКОМ

Тимирязев впервые обнаружил способность хлорофилла к восстановлению металлическим цинком с последующей регенерацией пигмента при действии воздуха на восстановленные соединения ³¹.

Кун и Винтерштейн указали на тождественность хлорофилла *a* до восстановления цинком и после обратной реакции ³². Однако Ротемунд, Альберс и Кнорр ³³ указали на то, что спектр пигмента после регенерации не идентичен спектру исходного хлорофилла.

В нашей лаборатории ³⁴ изучали восстановление хлорофилла и его аналогов в пиридиновом растворе металлическим цинком в присутствии уксусной кислоты; в этих условиях после регенерации происходит замена магния на цинк и образование цинкового комплекса хлорофилла. Среди промежуточных продуктов частично образуется соединение со спектром «красной» фотовосстановленной формы хлорофилла. Евстигнеев и Гаврилова ³⁵ изучали действие количества кислоты на восстановление цинком и нашли, что при некотором минимальном количестве кислоты удается получить продукт восстановления хлорофилла, идентичный по спектру с красной фотовосстановленной формой, из которого регенерируется хлорофилл, а не его цинковый комплекс.

При восстановлении раствора хлорофилла в пиридине амальгамой цинка в вакууме образуются продукты со спектром поглощения, отличным от красной формы; возможно, что в этих условиях частично образуются продукты одноэлектронного восстановления, соответствующие первичной фотовосстановленной форме хлорофилла с неизмеренным пока спектром; после пуска кислорода мгновенно идет обратная реакция с образованием хлорофилла. Восстановление гематопорфирина в этих условиях приводит к образованию продукта, идентичного по спектру «первичной» фотовосстановленной форме.

Таким образом, варьируя условия восстановления хлорофилла цинком, можно получить промежуточные соединения, идентичные продуктам фотовосстановления.

4. ИЗМЕНЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ РЕАКЦИИ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ

Все изучаемые порфириновые пигменты обладают характерной флуоресценцией, обычно красного цвета — лишь бактериохлорофилл обладает максимумом флуоресценции, лежащим в близкой инфракрасной области ($780 \text{ m}\mu$).

В начале исследования реакции мы наблюдали, что при фотовосстановлении обратимо падает красная флуоресценция хлорофилла и появляется оранжевое свечение фотовосстановленной формы при 600—630 $\text{m}\mu$. Евстигнеев⁵ наблюдал при замораживании фотовосстановленного хлорофилла до температуры жидкого азота появление зеленой флуоресценции с максимумами (в толуольном растворе) 525—520 и 550—570 $\text{m}\mu$. Гачковский³⁶ описал появление ряда максимумов флуоресценции при фотовосстановлении хлорофилла и феофитина, в том числе интенсивного максимума при 730 $\text{m}\mu$.

В нашей работе с Ерохиным³⁷ были предприняты систематические исследования спектров флуоресценции при фотовосстановлении пигментов аскорбиновой кислотой в пиридине. У всех исследованных пигментов — хлорофилла *a* и *b*,protoхлорофилла, бактериовиридина, соответствующих феофитинов и порфиринов обнаружена флуоресценция фотовосстановленных форм. Лишь в случае первичных фотовосстановленных форм феофитинов мы не смогли наблюдать резко выраженных максимумов флуоресценции при низкой температуре. Мы не смогли также наблюдать максимума флуоресценции фотовосстановленной формы хлорофилла и феофитина при 730 $\text{m}\mu$, описанной в работе Гачковского³⁵. По-видимому, в этой работе наряду с флуоресценцией регистрировалось рассеивание замороженным объектом возбуждающего света — группы ртутных линий 733 $\text{m}\mu$, вероятно, проходящих через примененную в данной работе комбинацию светофильтров.

5. ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА E_0 ПРИ ФОТОРЕАКЦИИ

Для того чтобы оценить сдвиг E_0 системы после реакции, в нашей работе с Брин³⁸ был применен метод редокс-индикаторов. В вакуумной трубке, имеющей боковой отвод, проводили фотопреакцию хлорофилла с аскорбиновой кислотой, после чего к продуктам фотовосстановления приливали в темноте растворы соединений с различной величиной E_0 и наблюдали за скоростью обратной реакции путем спектрофотометрических измерений.

Если до освещения система хлорофилл — аскорбиновая кислота в пиридине способна восстановить соединения с E_0 до 0,05 В (метиленовой голубой), то после освещения наблюдалось восстановление соединений с E_0 до —0,35 В (сафранин Г, пиридин-нуклеотиды). Эти данные были подтверждены измерениями потенциала инертного электрода в реагирующей системе. Мы обнаружили резкое изменение потенциала такого электрода при освещении системы хлорофилл — аскорбиновая кислота, подобно опытам Рабиновича³⁹, для системы тионин — ионы железа.

Евстигнеев и Гаврилова детально исследовали фотопотенциал платинового электрода при освещении реагирующего раствора⁴⁰. В особых опытах было показано, что фотопотенциал определяется не освещением электрода, а образованием фотопродуктов в толще раствора. При понижении температуры наблюдалось повышение величины E_0 за счет уменьшения скорости обратных реакций и увеличения стационарной концентрации фотопродукта. Изменение наблюдалось при —40° (т. е. в условиях, когда не происходило образования «красной» формы хлорофилла); эти наблюдения привели к выводу, что потенциал определяется образованием первичной, быстро обратимо реагирующей «электродно-активной» восстановленной формы пигментов, детально изученной в работах Евстигнеева¹³. Выводы о промежуточном образовании «первичной» восстановленной формы получили подтверждение также в работе Баннистера¹⁰ при исследовании квантового выхода реакции в зависимости от концентрации восстановителя. Величина E_0 при освеще-

ния растворов хлорофилла и его аналогов с аскорбиновой кислотой достигала $-0,35$ В, что соответствует опытам с применением редокс-индикаторов³⁸. Таким образом, «электродно-активная» форма и «красная» восстановленная форма имеют близкие величины E_0 .

Гендрих⁴¹ наблюдал изменение фотопотенциала при освещении системы хлорофилл — аскорбиновая кислота и изучал влияние ряда неорганических ионов на этот процесс. Он установил, что ионы Cu^{2+} и Ni^{2+} , которые могут связываться с аскорбиновой кислотой, препятствуют появлению фотопотенциала.

При освещении системы хлорофилл — фенилгидразин в вакууме Евстигнеев и Гаврилова наблюдали повышение электропроводности⁴²; при выключении света электропроводность возвращалась к прежнему уровню, что свидетельствует об образовании фотопродуктов, имеющих природу ионов. Сопоставление кинетики фотопроводимости и появления фотопотенциала при разных температурах указывает на то, что именно электродно-активные продукты определяют появление фотопроводимости. Так, при -40° фотопроводимость и фотопотенциал «держатся» после выключения света, тогда как при $+20^\circ$ наблюдается быстрая обратимость эффектов в темноте.

При освещении системы хлорофилл — аскорбиновая кислота в пиридине потенциал платинового электрода после освещения изменяется в отрицательную сторону на $0,3$ — $0,35$ В, что свидетельствует об образовании электродно-активных продуктов (фотовосстановленной формы пигментов), отдающих свой электрон электроду в согласии со схемой первичного фотопроцесса: $\text{X} + \text{AH}_2 \rightleftharpoons \cdot\text{X}^- + \cdot\text{AH}_2^+$; $\text{AH}_2^+ \rightarrow \cdot\text{AH} + \text{H}^+$, в сильных основаниях возможна дальнейшая диссоциация: $\cdot\text{AH} \rightarrow \text{A}^- + \text{H}^+$.

При этом возникает вопрос, почему платиновый электрод, заряжаясь отрицательно, воспринимает заряд восстановленной формы пигмента, но не отдает электрон окисленной форме донора водорода.

По-видимому, здесь играют роль следующие обстоятельства: преимущественная адсорбция фотопродуктов определенной природы на платине и условия кинетики вторичных превращений фотопродуктов. Если, например, скорости дисмутации одного из семихинонов пары ($\cdot\text{X}^-$ или $\cdot\text{AH}_2^+$) выше, чем скорость дисмутации его партнера, то стационарная концентрация медленно дисмутируемого соединения будет выше, что скажется на потенциале электрода. Кроме того, вероятно, что окисленный продукт (монодегидроаскорбиновая кислота) $\cdot\text{AH}$ обладает способностью восстановителя — соединения, отдающего электрон электроду с образованием дегидроаскорбиновой кислоты. Таким образом, возможно, что оба фотопродукта, образуемые при реакции, склонны отдать электрон электроду. Поэтому желательно исследовать электродную активность не только первичной восстановленной формы пигментов, но и образуемого «полуокисленного» соединения.

С этой точки зрения следует сопоставить картину явления в случае восстановителя другой химической природы — ионов двухвалентного железа. В работе автора с Умрихиной²¹ изучался фотопотенциал платинового электрода в кислых водных растворах, в системе порфирина — аскорбиновая кислота; в этой системе фотопотенциал изменялся в отрицательную сторону, так же как и в системе хлорофилл — аскорбат в пиридине. Однако, в случае применения оксалата железа как донора электрона, фотопотенциал изменялся в положительную сторону, так как в этом случае, по-видимому, более электродно-активными были ионы Fe^{3+} , образующиеся при элементарном фотопроцессе: $\text{X} + \text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \cdot\text{X}^- + \text{Fe}^{3+}$. Кинетика изменения фотопотенциала электрода в изучаемых системах нуждается в более детальном изучении.

6. МОЛЕКУЛЫ-ВОССТАНОВИТЕЛИ (ДОНОРЫ ЭЛЕКТРОНА), РЕАГИРУЮЩИЕ С ХЛОРОФИЛЛОМ И ЕГО АНАЛОГАМИ

Реакция в наиболее отчетливом виде с образованием долгоживущих продуктов наблюдалась в пиридине при применении аскорбиновой кислоты и других диенолов, фенилгидразина, сероводорода, цистеина^{1, 2, 3}. Чтобы исследовать быстро обратимое, «скрытое» образование первичных фотопродуктов, нужно было применить методы, позволяющие наблюдать за образованием этих соединений во время периода освещения; более чувствительными были методы измерения фотопотенциала, сенсибилизированной фотополимеризации или сенсибилизированного восстановления необратимо восстановливающихся акцепторов электрона.

Изменение E_0 в отрицательную сторону при реакции с хлорофиллом обнаружили гидрохинон, пирокатехин, тиозинамин и ряд других соединений¹³. Остер и Холт⁴³ использовали этилендиаминтетрауксусную кислоту в реакциях этого типа. Метод полимеризации^{44, 45} показал также активность соединения двухвалентного железа. Наблюдавшееся нами сенсибилизированное окисление цитохрома в присутствии хлорофилла^{25, 26} указывает на возможность обратимого процесса и в этом случае. Из опытов Ракова и Кенига⁹ как будто существует возможность использования гемохромогенов как доноров электрона. Таким образом, восприятие электрона возбужденной молекулой хлорофилла возможно с участием систем, обладающих E_0 от $-0,3$ до $+0,3$ В.

Вероятно, хлорофилл мог бы реагировать с цитохромом *b*, обнаруженным в хлоропластах⁴⁶; величина E_0 цитохрома *b* близка к E_0 аскорбиновой кислоты. Однако до сих пор остается неясной возможность восприятия возбужденной молекулой пигмента электрона от молекулы воды.

Применение дейтерированных доноров. Применение дейтерированной аскорбиновой кислоты приводит к замедлению фотовосстановления хлорофилла, ведущему к образованию «красной» формы⁴⁷; обратная темновая реакция при этом также идет медленнее; реакция Хилла также замедляется при увеличении количества D_2O во воде⁴⁷.

При этом D_2O , замедляя образование «красной» формы феофитина, не влияет на скорость образования «первой» фотовосстановленной формы⁴⁸; при низкой температуре скорость образования первичной формы феофитина одинакова в случае применения дейтерированной и недейтерированной аскорбиновой кислоты⁴⁸. Эти наблюдения являются подтверждением перехода электрона при образовании «первой» формы и участия протона при образовании более устойчивой «красной» формы.

Реакция с растворителем. Порре и Рабинович⁴⁹ впервые наблюдали эффект обратимого выцветания хлорофилла в метаноле. Ливингстон^{50, 51, 52} изучал обратимые спектральные изменения растворов хлорофилла методами импульсной спектроскопии и нашел рост поглощения при 525 $m\mu$, что соответствует максимуму фотовосстановленной формы хлорофилла. Линшитц и Реннерт⁵³ обнаружили обратимые изменения спектра поглощения хлорофилла, освещая его в стеклообразных средах при низкой температуре. Линшитц и Абрагамсон⁵⁴, применяя технику импульсной спектроскопии, отметили в растворах хлорофилла в пиридине обратимое понижение максимума поглощения хлорофилла в красной области спектра и появление максимума в зеленой области при 525 $m\mu$, а также некоторое увеличение поглощения при 700 $m\mu$. Авторы отмечают, что в пиридине длительность жизни продукта с поглощением при 525 $m\mu$ больше, чем в других растворителях, и обратимость процесса лучше, чем в очищенном метаноле.

Теренин с сотрудниками⁵⁵ наблюдали при помощи импульсной техники обратимое понижение максимума поглощения в растворах фталоцианина магния, а также появление новых максимумов в гематопорфирине⁵⁶.

В опытах этого типа раствор подвергался действию чрезвычайно мощного светового импульса длительностью $\sim 10^{-5}$ сек., возникающего при разряде батареи конденсаторов в разрядной трубке (50 джоулей); через 10^{-4} — 10^{-5} сек. после действующего импульса через раствор пропускали «регистрирующий» световой импульс другой разрядной трубы.

Мы уже высказывали предположение^{57, 58}, что наблюдаемые в описанных опытах эффекты объясняются обратимым фотовосстановлением хлорофилла, при котором молекулы растворителя являются донарами электрона (водорода). Действительно, кислород ингибирировал обратимые эффекты в опытах Ливингстона в согласии с быстрой реакцией окислителей с фотовосстановленной формой хлорофилла.

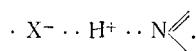
О том, что в опытах с применением импульсной техники наблюдается преимущественно образование фотовосстановленных форм пигмента, по нашему мнению, свидетельствуют недавние опыты Ливингстона и Фужимори⁵⁹. В этих опытах изучалось действие различных соединений на τ -длительность жизни метастабильного возбужденного состояния хлорофилла. Оказалось, что молекулы-окислители сокращают время τ , а восстановители (аскорбиновая кислота) не влияют на длительность τ .

Эти результаты легко понять, допуская, что при действии световых импульсов образуется фотовосстановленная форма хлорофилла; понятно, что эта форма не реагирует с восстановителем (аскорбиновой кислотой), но реагирует с окислителем (хиноном). Действие каротина в этих опытах соответствует влиянию этого соединения на фотовосстановление хлорофилла, наблюдавшееся в наших опытах^{29, 60}.

Спектр «триплетного» состояния в работах Ливингстона и Линштца похож на спектр «первой» фотовосстановленной формы феофитина, измеренной Евстигнеевым, в нем есть также область поглощения, соответствующая красной форме хлорофилла. По-видимому, в этих опытах главным является эффект восприятия электрона возбужденной молекулой пигмента, тогда как возможное образование менее длительного метастабильного состояния накладывается на главный эффект и трудно различимо при использованной технике регистрации (см. также⁵⁶).

7. ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНО-ОСНОВНЫХ СВОЙСТВ СРЕДЫ

Отчетливое образование относительно устойчивых фотовосстановленных форм хлорофилла удается наблюдать в пиридине. Мы уже высказывали предположение, что эта устойчивость связана с условиями кислотно-основного равновесия, когда протон находится «между» молекулой пигмента, впринявшей электрон, и молекулой среды — основания



Образование этих относительно стабильных соединений возможно лишь при соблюдении определенных значений сродства к протону молекулы пигмента и среды — основания. Оптимум основности среды, при котором образуются устойчивые восстановленные формы, отличается у различных пигментов. Следовало ожидать, что в среде более основной, чем пиридин, будет доминировать образование отрицательных ион-радикалов $\cdot X^-$, быстро реагирующих обратно. В более «кислых» средах можно было ожидать образования радикалов $\cdot XH$ при восприятии од-

ного протона и положительно заряженных ион-радикалов $\cdot\text{XH}_2^+$ при восприятии двух протонов.

Действительно, если ввести несколько капель сильного основания — пиперидина или аммиака в пиридиновый раствор «красной» формы, происходит быстрая обратная реакция (за счет ионизации восстановленной формы)²⁹; в соответствии с этим пиперидин или аммиак, добавленный в пиридиновый раствор хлорофилла, затрудняют образование «красной» формы при фотопреакции. Эти опыты нужно вести быстро и лучше при низких температурах, так как даже 1% пиперидина в пиридине ведет к постепенному нарушению циклопентанового кольца молекулы хлорофилла. Если вести реакцию в пиридине, тщательно высушенном гидридом кальция, то образование «красной» формы идет гораздо медленнее, чем в обычном реактивном влажном пиридине, что объясняется недостатком «водородных ионов» в сухом пиридине, нужных для образования «красной формы».

В случае гематопорфирина в сильно основных средах (пиперидин) образуется восстановленная форма с максимумом поглощения при 650 $\text{m}\mu$, а в средах менее основных (спиртопиридиновые смеси) — с максимумом 740 $\text{m}\mu$. Изменяя основность среды, можно многократно и обратимо изменять положение максимума поглощения восстановленных форм²⁰.

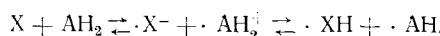
Таким образом, переход формы «650» в «745» определяется не различными уровнями окисления-восстановления, как предполагалось раньше¹⁹, а условиями кислотно-основного равновесия. Следует указать на то, что при восстановлении пигментов цинком, по Тимирязеву, наблюдается оптимум кислотности при образовании восстановленных форм различных пигментов³⁵.

Таким образом, в зависимости от основности среды-растворителя в широких пределах изменяются спектральные свойства и реакционная способность фотовосстановленных форм пигментов. Требует более детального изучения влияние основности среды на свойства и поведение «полуокисленных» при реакции молекул-доноров электрона; следует полагать, что монодегидроаскорбиновая кислота также более устойчива в основных средах, находясь там в форме ион-радикала, по-видимому, именно эта форма обнаруживается в опытах измерения электронного парамагнитного резонанса (см. ниже).

8. ОБРАЗОВАНИЕ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ ПРИ РЕАКЦИИ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ

Молекулы-окислители (хиноны, нитросоединения) тушат флуоресценцию хлорофилла, но не реагируют с ним фотохимически, тогда как восстановители, реагируя, не оказывают «физически» тушащего действия на флуоресценцию пигмента⁶¹. Эти наблюдения указывают на возможность участия в реакции именно метастабильных молекул пигмента, находящихся, согласно исходным представлениям Теренина, Дж. Н. Льюиса и Каша, получившим ныне всеобщее распространение, в триплетном или бирадикальном состоянии. Обращение спина электрона при образовании долгоживущего метастабильного уровня определяет длительное существование «дырки» — вакантного электронного уровня, образованного в результате возбуждения молекулы пигмента.

В элементарном акте фотовосстановления происходит восприятие электрона возбужденной молекулой хлорофилла от молекулы донора; при этом должно произойти образование пары ион-радикалов; последующий перенос протона может вести к образованию пары радикалов в неионной форме:



Ури⁶² заметил, что хлорофилл в присутствии аскорбиновой кислоты инициирует полимеризацию метилметакрилата.

Детальное исследование^{44, 45} инициирования полимеризации системой пигмент — донор водорода в пиридиновых растворах и в водных эмульсиях показало, что полимеризацию инициируют хлорофилл, все его аналоги и производные. Фикобилины в согласии с их неспособностью к фотовосстановлению не оказывали действия на полимеризацию. В качестве доноров электрона наиболее активны диенолы, цистеин, соединения двухвалентного железа. (Кстати, другими методами мы не могли обнаружить взаимодействие Fe^{2+} с хлорофиллом.) Полимеризацию тормозили соединения (сафранин, рибофлавин), активно реагирующие с фотовосстановленными формами пигментов.

В анаэробных условиях полимеризацию, по-видимому, инициирует ион-радикальная восстановленная форма пигмента, а в присутствии кислорода — перекисные радикалы — продукты фотовосстановления кислорода (OH , HO_2). По поводу замечания Розенберга⁶³ о возможном действии в этих опытах триплетного состояния пигмента следует указать, что активная полимеризация наблюдалась лишь в присутствии молекул-доноров электрона. Линштц и Вейссман⁷ не нашли парамагнитного резонанса у «красной» восстановленной формы хлорофилла и до сих пор не ясно, является ли эта форма радикалом или валентно-насыщенным продуктом дисмутации, $X\dot{A}_2$. Более вероятной следует считать вторую возможность. Мы указали⁵⁸, что при измерении парамагнитного резонанса во время освещения системы хлорофилл — аскорбиновая кислота будет обнаружен эффект образования ион-радикалов при достаточной чувствительности установки. Действительно, проведенные вскоре после этого измерения⁴⁵ показали, что освещение систем хлорофилл — аскорбиновая кислота и феофитин — аскорбиновая кислота в вакууме, непосредственно в резонаторе, конденсированным светом ртутно-кварцевой лампы, приводит к появлению сигнала, мгновенно исчезающего после выключения света. Сигнал имел наибольшую величину при -40° , т. е. в условиях, благоприятствующих образованию ион-радикальной восстановленной формы. Без восстановителя эффект наблюдать не удалось.

Как мы уже упоминали, в элементарном фотопроцессе переноса электрона образуется пара ион-радикалов — радикальная восстановленная форма пигмента ($\cdot\cdot X\dot{-}$) и радикальная окисленная форма аскорбиновой кислоты ($\cdot AH^+$), которая в сильных основаниях может быть в форме отрицательно заряженного ион-радикала.

Коммонер⁶⁴ сообщил на IV международном биохимическом конгрессе, что структура ЭПР сигнала, наблюдаемая при фотовосстановлении хлорофилла аскорбиновой кислотой, соответствует радикальной окисленной форме аскорбиновой кислоты. Эти выводы соответствуют данным, полученным в институтах Химической физики и Биохимии АН СССР⁶⁵, где было показано, что структура сигнала ЭПР одинакова при фотовосстановлении аскорбиновой кислотой различных пигментов: хлорофилла, гематопсфериана, феофитина, фталоцианина магния (см. рис. 3). Сигнал ЭПР с такой же структурой наблюдается при освещении аскорбиновой кислоты в пиридине, дающей скрашенный комплекс с этим сильным основанием. При применении других восстано-

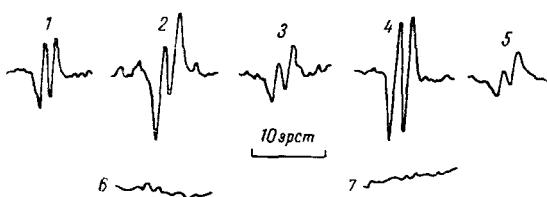


Рис. 3. Спектр электронного парамагнитного резонанса, возникающий во время освещения системы пигмент — аскорбиновая кислота⁶⁵
1 — хлорофилл *a*; 2 — хлорофилл *a* + *v*; 3 — феофитин *a* + *v*; 4 — гематопорфирин; 5 — фталоцианин магния; 6 — аскорбиновая кислота без пигмента; 7 — хлорофилл без аскорбиновой кислоты

вителей (фенилгидразин) не удается наблюдать ЭПР сигнал, по-видимому, вследствие очень малой фотостационарной концентрации радикальной восстановленной формы хлорофилла.

Таким образом, образуемая при реакции фотовосстановления окисленная форма аскорбиновой кислоты (монодегидроаскорбиновая кислота) обладает большей устойчивостью, не претерпевает в основных средах быстрых вторичных реакций — дисмутации и др. и существует, вероятно, в форме ион-радикала.

Следует отметить, что в этой работе наблюдалось появление ЭПР сигнала с той же структурой, что и при фотовосстановлении хлорофилла при освещении листьев некоторых злаков непосредственно в резонаторе прибора.

9. ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПРИ ОБРАТНЫХ РЕАКЦИЯХ ПРОДУКТОВ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ ХЛРОФИЛЛА

Стрелер и Арнольд⁶⁶ обнаружили в зеленых листьях и хлоропластах весьма слабое красное послесвечение, длившееся в течение нескольких минут после выключения света. Дальнейшие исследования показали, что

свечение состоит из ряда составляющих, обладающих различной длительностью. Это слабое свечение удалось обнаружить при помощи счетчика фотонов, приемником служил фотоумножитель, охлаждаемый жидким азотом.

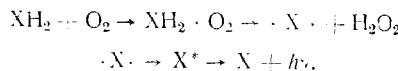
Для того чтобы судить о природе свечения в листьях, желательно исследовать все типы хемилюминесценции хлорофилла. Так, давно известно красное свечение, возникающее при окислении хлорофилла и его аналогов перекисью тетралина^{67, 68}.

При помощи счетчика фотонов удалось наблюдать хемилюминесценцию при обратном окислении фотовосстановленного аскорбиновой кислотой хлорофилла⁶⁹. После освещения пиридинового раствора хлорофилла с аскорбиновой кислотой или фенилгидразином обратная реакция (в темноте) без воздуха сопровождается крайне слабым послесвечением. Введение воздуха увеличивает эффект, ускоряя обратную реакцию.

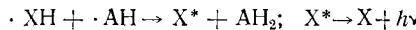
Рис. 4 Хемилюминесценция, возникающая при окислении фотовосстановленной формы хлорофилла (измерения при помощи счетчика фотонов)⁶⁹ без O_2 — после освещения системы хлорофилл — аскорбиновая кислота без воздуха; $+O_2$ — пуск воздуха в темноте после реакции фотовосстановления; $+O_2, NH_3$ — пуск воздуха и введение раствора аммиака после фотовосстановления

Введение в систему аммиака, чрезвычайно усиливает красной фотовосстановленной формы хлорофилла²⁰, также приводит к чрезвычайному усилению эффекта свечения⁶⁹ (см. рис. 4).

Без восстановителя в данном режиме опытов свечения не наблюдается. Механизм процесса нуждается в изучении; можно высказать предположение, что при темновом взаимодействии восстановленной формы хлорофилла с кислородом происходит образование бирадикала — триплетного состояния, которое за счет запаса тепла системы переходит в синглетное возбужденное состояние, испускающее свечение, подобное по спектру флуоресценции:



Возможно также образование возбужденных состояний и при обратных реакциях ион-радикальных фотопродуктов по «обратному пути» фотовосстановления:



Дальнейшие работы должны показать, можно ли приписать длительное свечение в опытах Стрелера и Арнольда окислению хлорофилла или его фотовосстановленной формы.

10. ОБ ОБРАЗОВАНИИ ПРЕДРЕАКЦИОННЫХ АССОЦИАТОВ

Условием осуществления элементарного фотопроцесса является контакт реагирующих молекул; длительность этого контакта может быть различна. Жизнь «активного комплекса» в момент соударения длится очень недолго, однако, наряду с этим, возможно образование долгоживущих предреакционных ассоциатов, распадающихся после акта электронного переноса.

В нашем случае мыслимы три типа ассоциатов с молекулой-донором водорода, образуемых либо с участием невозбужденной молекулы пигмента, либо с возбужденной молекулой в синглстоном состоянии, либо с длительно живущей возбужденной молекулой в триплетном состоянии.

Образование долгоживущих ассоциатов хлорофилла с аскорбиновой кислотой в среде пиридина маловероятно, так как молекулы среды (основания) сами координационно взаимодействуют с центральным атомом магния молекулы хлорофилла⁷⁰. Действительно, введение аскорбиновой кислоты в пиридиновый раствор хлорофилла не изменяет его спектра поглощения. Однако образование ассоциатов с малой длительностью жизни, в которых происходит перенос электрона, является возможным. С другой стороны, Даин с сотрудниками²³ наблюдали изменение спектра поглощения при взаимодействии хлорофилла и ионов металлов, свидетельствующее, по мнению авторов, об образовании долгоживущих комплексов.

Об образовании комплексов с молекулой в синглстоном возбужденном состоянии, вероятно, можно было бы судить, измеряя длительность возбужденного состояния (τ) пигмента при введении аскорбата или другого донора водорода; такие опыты, по-видимому, не проводились.

Наконец, подобные опыты можно было бы осуществить с пигментами в триплетном состоянии, высокая химическая активность которых, указанная в работах Теренина⁷¹, делает их склонными к образованию ассоциатов.

Опытами Евстигнеева и Гавриловой¹¹¹ показано, что скорость образования первичной фотовосстановленной формы феофитина не зависит от температуры, если вязкость среды сильно не изменяется; если же вязкость увеличивается за счет введения глицерина, то скорость реакции уменьшается. При замерзании раствора реакция не идет; авторы считают, что для течения реакции нужны кинетические соударения и маловероятно существование «в темноте» долгоживущих ассоциатов.

11. МЕХАНИЗМ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ

Используя представления Михаэлиса об «одноэлектронном» механизме окислительно-восстановительных реакций, мы предложили¹ схему процесса, состоящую из следующих стадий:

1. Восприятие электрона возбужденной (вероятно, метастабильной бирадикальной) молекулой пигмента (X) от молекулы-донора водорода (AH_2) с образованием пары ион-радикалов. Мы указали на вероятность восприятия электрона системой сопряженных по кругу двойных связей молекулы пигмента (см. схему на стр. 750).

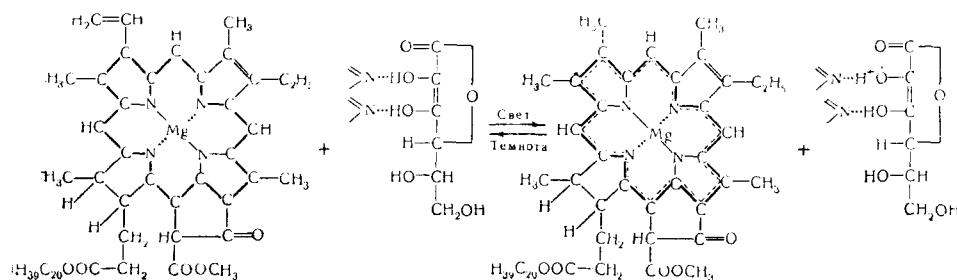
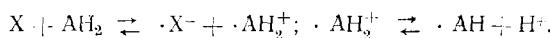


Рис. 5. Схема фотовосстановления хлорофилла аскорбиновой кислотой. Жирной линией показан один из возможных путей сопряжения по кругу системы двойных связей молекулы хлорофилла.

Пунктиром показано восприятие электрона системой сопряженных связей возбужденной молекулы хлорофилла; $\geqslant N$ молекулы среды-основания, связанные водородной связью с реагирующими соединениями



Перенос протона, связанного с молекулами среды-основания, с образованием пары радикалов и последующим образованием валентнонасыщенных соединений:



Экспериментальный материал подтвердил в основных чертах эту схему процесса.

Приведем сводку основных опытных данных (описанных в предыдущих разделах обзора), подтверждающих указанный механизм реакции.

Опытные данные	Следствие
1. Способностью к обратимому фотовосстановлению обладают все пигменты со структурой порфина, хлорина, бактериохлорина, азапорфина, независимо от природы боковых групп (с H, Mg или Zn в центре молекулы).	Для реакции существенно наличие в молекуле пигмента сопряженной по кругу системы двойных связей, связывающей четыре пирольных кольца.
2. Основность среды, в которой идет реакция, сильно влияет на спектральные свойства и реакционноспособность продуктов фотовосстановления.	Различные типы продуктов фотовосстановления связаны условиями кислотно-основного равновесия (перемещение протона).
3. При освещении системы пигмент—донор водорода потенциал инертного электрода изменяется в отрицательную сторону и увеличивается электропроводность системы.	Образуются продукты, имеющие природу ионов и активные фотопродукты, отдающие электрон электроду.
4. Освещение при низкой температуре тормозит образование устойчивых продуктов фотовосстановления; в этих условиях происходит быстро обратимый первичный процесс, сопровождающийся эффектами, указанными выше (в п. 3).	Реакция включает световую стадию переноса электрона в темновую стадию.
5. В случае применения дейтерированных доноров водорода тормозится темновая стадия реакции.	Темновая стадия связана с переносом протона.
6. Система пигмент—донор водорода при освещении инициирует фотополимеризацию метилметакрилата. При освещении системы пигмент—донор водорода наблюдается появление спектра электронного парамагнитного резонанса, исчезающего после выключения света.	При реакции образуются фотопродукты, имеющие природу свободных радикалов (ион-радикалов).

Таким образом, в условиях, когда заторможены темновые стадии реакции, связанные с переносом протона (водорода), наблюдается «в чистом виде» перенос электрона. В средах различной основности устанавливается различное протолитическое равновесие. Зависимость

спектральных свойств фотопродуктов от характера среды особенно отчетливо наблюдается для порфиринов, у которых возможны различные ступени кислотно-основного равновесия, связанные с наличием в их молекуле кислых (карбоксил) и основных (пиррольный азот) группировок. Число протонов, присоединенных к молекуле, и число перенесенных электронов в общем случае не одинаково и фотопродукты могут иметь природу катионов и анионов, что видно из резких отличий в свойствах фотовосстановленных форм гематопорфирина в различных средах — от сильных оснований (пиперидин) до сильных кислот (водный раствор серной кислоты).

Дальнейшие исследования структуры полос парамагнитного резонанса фотопродуктов позволяют, вероятно, решить вопрос о локализации электрона и протона в молекуле пигмента.

II. ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВЛЕННЫЕ РЕАКЦИИ, ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫЕ ХЛОРОФИЛЛОМ

При освещении красным светом системы хлорофилл — донор электрона — акцептор электрона наблюдается сенсибилизированное восстановление молекул-акцепторов электрона за счет квантов света, поглощаемых хлорофиллом⁷². Этой способностью обладают все изученные аналоги хлорофилла (в том числе фталоцианин магния), способные к реакции фотовосстановления. В случае бактериохлорофилла и бактериофеофитина реакции возбуждаются светом близкой инфракрасной области спектра^{73, 74}.

За ходом реакции удобно следить путем спектрофотометрических измерений в вакуумных трубках Тунберга, наблюдая за изменением оптической плотности в максимумах поглощения акцепторов или за появлением новых максимумов восстановленных соединений.

Используя аскорбиновую кислоту ($E_0 = +0,5$ V) в качестве донора электрона, мы наблюдали фотовосстановление рибофлавина ($E_0 = -0,22$ V), сафранина Т ($E_0 = -0,3$ V), пиридиннуклеотидов ($E_0 = -0,32$ V). При выключении света эти реакции идут обратно с разной скоростью, иногда требуя введения кислорода для регенерации красителя из лейкоформы.

При этих реакциях происходит «запасание» энергии света — увеличение свободной энергии системы, характеризуемое величиной ΔE_0 донора ($E_0 = +0,05$ V) и акцептора ($E_0 = -0,32$ V) электрона, которое можно грубо оценить: $\Delta F = 2 \cdot 23,06 \cdot 0,4 = 18,4$ ккал.

Сравнительную замедленность обратных реакций в исследованных нами процессах следует объяснить быстро идущей дисмутацией первично образуемых семихинонов до лейко соединений; при освещении скорость дисмутации выше скорости обратных реакций первичных фотопродуктов.

В водной среде нам удалось наблюдать сенсибилизированное хлорофиллом окисление-восстановление цитохрома С^{25, 26}. При этой реакции донорами электрона могли служить белки (вода?). Фотоокисление восстановленного цитохрома мы вели в присутствии кислорода воздуха.

В случае применения азокрасителей в качестве акцепторов электрона происходит их необратимое восстановление; уже давно в реакциях этого типа применяли азокраситель метиловый красный^{75, 76}. В этом случае, однако, восстановление метилового красного аскорбиновой кислотой и фенилгидразином происходит медленно и в темноте, но свет чрезвычайно сильно ускоряет течение этой реакции.

В ряде сенсибилизированных реакций, идущих в аэробных условиях, кислород является конечным акцептором электрона. Сенсибилизированное хлорофиллом окисление ряда органических соединений известно давно, но доныне не было единого мнения о механизме этого процесса. При помощи манометрического метода Варбурга^{77, 78} наблюдалось

фотоокисление ряда доноров водорода, способных к фотовосстановлению хлорофилла и феофитина. Вероятно, и в этом случае темновая стадия реакции сводится к регенерации хлорофилла из промежуточной фотовосстановленной формы за счет ее окисления кислородом. Альтернативный механизм первичного фотообразования перекиси хлорофилла с темновым актом восстановления этой перекиси донором водорода менее вероятен, хотя нами были обнаружены лабильные продукты фотоокисления хлорофилла и бактериохлорофилла, медленно взаимодействующие с аскорбиновой кислотой с регенерацией пигмента^{17, 79, 80}. Реакция фотовосстановления хлорофилла донором водорода идет гораздо быстрее, чем фотоприведение с кислородом.

О том, что изученные сенсибилизированные реакции идут через стадию обратимого фотовосстановления пигмента-сенсибилизатора, говорят следующие факты:

1. Сенсибилизированное восстановление наблюдается в системе, содержащей доноры водорода, способные участвовать в реакции фотовосстановления хлорофилла.

2. В тройной системе, содержащей донор электрона, пигмент и акцептор электрона, не удается наблюдать накопления фотовосстановленных форм пигментов вследствие их быстрой реакции с молекулами-акцепторами электрона; лишь после того, как весь акцептор будет «сенсибилизирован» восстановлен, начинается образование фотовосстановленной формы пигмента-сенсибилизатора. Это проявляется в форме индукционного периода сенсибилизированных реакций (см., например,²¹).

3. Наконец, удается раздельно осуществить фотостадию реакции (образование фотовосстановленных форм пигмента) и их взаимодействия в темноте с молекулами-акцепторами электрона. В случае хлорофилла это иллюстрируется опытами с «красной» фотовосстановленной формой³⁸, однако «первичные» фотовосстановленные формы реагируют с акцепторами гораздо быстрее, что было показано в опытах Евстигнеева¹³. Весьма показательно действие акцепторов на фотопотенциал электрода в системе хлорофилл — аскорбиновая кислота²⁸ и «тушащее» действие этих соединений на фотопроводимость системы хлорофилл — аскорбиновая кислота⁸¹ вследствие их быстрой реакции с фотовосстановленной формой хлорофилла.

Таким образом, имеющийся экспериментальный материал приводит к выводу, что сенсибилизированные реакции идут через стадию обратимого фотовосстановления хлорофилла и его аналогов. Этот механизм сенсибилизации, установленный в экспериментах с хлорофиллом, сходен со схемой Вейсса⁸², предложенной им более 20 лет назад для красителей-сенсибилизаторов, способных к образованию лейкосоединений.

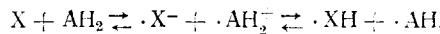
В работах нашей лаборатории детально исследовано участие фотовосстановленных форм пигментов при сенсибилизированных реакциях, однако требует более глубокого изучения участие в этих реакциях «полуокисленных» форм молекул-доноров электрона, типа монодегидро-аскорбиновой кислоты, стационарная концентрация которой достаточно высока, о чем свидетельствуют измерения электронного парамагнитного резонанса.

Эти «полуокисленные» соединения, по-видимому, способные не только к обратным реакциям с восстановленными формами пигмента, но и способны окисляться дальше (до дегидроаскорбиновой кислоты), передавая свой водород акцептору — молекуле кислорода, метилового красного и т. д. Неясны, однако, пределы восстановительной способности этих соединений — вряд ли они могут восстанавливать системы со столь высоким потенциалом, как сафранин и пиридиннуклеотиды.

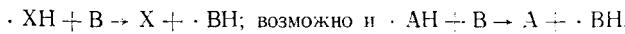
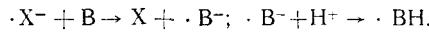
Итак, механизм сенсибилизированной хлорофиллом или его аналогами реакции переноса водорода от молекулы AH_2 к молекуле В может

быть выражен следующей схемой:

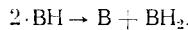
1. Фотовосстановление:



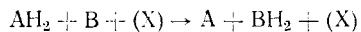
2. Темновые стадии реакции с акцептором водорода (электрона) B; регенерация хлорофилла из фотовосстановленных форм:



3. Дисмутация семихионных форм:



Суммарный процесс:



Если в растворах такой механизм реакции доказывается прямыми опытами, то в случае гетерогенной сенсибилизации на кристаллах пигментов и в коллоидных растворах весьма трудно разделить отдельные стадии реакции, протекающей на фазовой границе. Можно думать, что и здесь сохраняются элементарные акты перехода электрона от акцептора к молекуле пигмента («дырке») на фазовой границе и компенсирующий акт отдачи электрона молекуле-акцептору. На возможность такого механизма мы указывали при изучении фотокаталитического действия гетерогенных сенсибилизаторов^{83, 84}. На эту возможность указывают опыты Евстигнеева и Теренина по измерению фотопотенциалов твердых пленок пигментов в водных средах⁸⁵.

III. ФОТОРЕАКЦИИ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ ХЛОРОФИЛЛА

Выше описаны реакции молекулы хлорофилла в органических растворителях; рассмотрим теперь свойства хлорофилла в агрегированных формах — водных коллоидных растворах.

Давно известно, что такие коллоиды образуются при вливании растворов хлорофилла (в спирте, ацетоне, диоксане, пиридине) в избыток воды или буферного раствора. Мы нашли, что коллоидные растворы хлорофилла получаются также при прямом растворении в воде хроматографической зоны хлорофилла, адсорбированного на сахаре. Положение максимума поглощения и величина частиц зависят от вида растворителя и от pH водной среды; показано⁸⁶, что при pH 4—5 образуются более крупные частицы с максимумом поглощения 690 $m\mu$, а при pH 8—9 весьма устойчивые коллоиды с максимумом при 670—672 $m\mu$. В отличие от этих систем мы нашли, что коллоиды, полученные при вливании растворов хлорофилла в водные растворы дегтергентов (анионидных, катионидных и нейтральных), обладали яркой флуоресценцией, максимумом поглощения при 669—670 $m\mu$ и фотохимическими свойствами, сходными с хлорофиллом в растворе^{77, 87}. Это, вероятно, определяется тем, что молекулы пигмента расположены в виде монослоя на мицеле дегтергента, т. е. находятся в дезагрегированной форме.

Водные коллоиды хлорофилла обладают фотосенсибилизирующим действием, наиболее заметным в том случае, если конечный акцептор электрона восстанавливается необратимо, что имеет место в случае кислорода и азокрасителей (метилового красного). В некоторых опытах наблюдалась полимеризация акриламида при освещении красным светом водных коллоидных растворов хлорофилла в вакууме.

В отличие от сравнительно слабой активности этих систем коллоиды, полученные при помощи дегтергентов, обладают сильным сенсибилизирующим действием, не меньшим, чем у хлорофилла в растворах.

Трудно сомневаться в том, что здесь сохраняется тот же элементарный механизм процесса, что и в растворах. Фотосенсибилизирующее действие коагулированных коллоидов хлорофилла изучалось в недавних работах нашей лаборатории⁸⁸.

IV. ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ХЛОРОФИЛЛА В ГРАНУЛАХ ХЛОРОПЛАСТОВ

Свойства хлорофилла в гранулах мы изучали в вязких водноглицериновых средах, допускающих точные спектрофотометрические измерения вследствие прозрачности этих сред и их устойчивости в «коллоидном» смысле. Такие системы допускают работу и при низких температурах.

В таких «зеленых растворах» из листьев сахарной свеклы в присутствии аскорбата удалось наблюдать при освещении малые обратимые изменения оптической плотности (до 3%) в красном максимуме поглощения хлорофилла, что следует приписать обратимому фотовосстановлению; при этом наблюдались также изменения фотопотенциала инертного электрода в отрицательную сторону. На спектрофотометре Бекмана мы не могли обнаружить отчетливых изменений оптической плотности при 520 $\text{m}\mu$. Без аскорбата наблюдаются меньшие по величине эффекты. В гомогенатах зеленых листьев такие обратимые фотохимические изменения следует приписать «мономерной» форме хлорофилла близкой по свойствам хлорофиллу в растворе^{86, 89, 90}.

Хорошо известно, что в «окислительной» среде гомогенаты листьев способны к реакции Хилла — выделению кислорода, сопряженному с восстановлением окислителей — Fe^{3+} , хинонов и т. д. В «восстановительной» среде в присутствии аскорбата натрия, гомогенаты листьев способны к обратимому фотосенсибилизированному восстановлению сафранина и других соединений, а также к необратимому восстановлению кислорода и метилового красного⁹¹.

Листья растений, обладающие большим количеством быстровызывающей мономерной формы, более активны в реакциях этого типа; например, листья сахарной свеклы активнее листьев фасоли.

До сих пор не ясно, какова биологическая роль различных форм хлорофилла и каков способ их участия в реакциях фотосинтеза. Подсчеты показывают, что для переноса одного электрона от воды к углекислоте требуется около двух квантов красного света, что, возможно, требует двух типов фотохимических реакций с резервом промежуточных соединений между ними. Возможно, что разные типы реакций связаны с разными формами хлорофилла. Во всяком случае, способность молекулы хлорофилла к восприятию электрона при освещении сохраняется у «коллектива» молекул в агрегированных формах. Миграция энергии между молекулами пигмента в таких агрегатах (в гранулах пластид), вероятно, может происходить в виде «дырки» и неспаренного электрона и на уровне триплетного состояния, например, по механизму, предложенному в работах Теренина и Ермолаева^{92, 93}.

V. ОБРАТИМЫЕ ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ЖИВЫХ ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ

Быстро идущие обратимые превращения хлорофилла при фотохимических реакциях в живых листьях требуют особых методов регистрации. В настоящее время для этого используется техника дифференциальной и импульсной спектрофотометрии, измерения флуоресценции и электронного парамагнитного резонанса.

В опытах Колемана, Холта и Рабиновича⁹⁴ удалось наблюдать обратимые изменения в красном максимуме поглощения хлорофилла в суспензии хлореллы и одновременно в области 520 $\text{m}\mu$, которые можно

приписать обратимому фотовосстановлению. В последующей работе Ко-леман и Рабинович⁹⁵ указывают на сходство дифференциальных спектров после освещения суспензии *Chlorella* и после фотовосстановления хлорофилла аскорбиновой кислотой; приводятся доводы, указывающие на возможность обратимого фотовосстановления хлорофилла в живых организмах. Однако требует объяснения тот факт, что при фотовосстановлении хлорофилла отношение падения оптической плотности в красном максимуме поглощения ($\Delta D_{670 \text{ m}\mu}$) к росту плотности в максимуме фотовосстановленной формы ($\Delta D_{520 \text{ m}\mu}$) составляет величину 2—3, тогда как в клетках хлореллы это отношение едва достигает единицы. В опытах Витта⁹⁶, сделанных при помощи импульсной техники, падению оптимальной плотности в красном максимуме поглощения соответствовали обратимое падение красной флуоресценции хлорофилла и появление максимума при 520 $\text{m}\mu$.

Появление этого максимума после освещения живых листьев было впервые обнаружено Дюсенсом⁹⁷ и далее изучалось в работах Витта⁹⁶, Белла⁹⁸ и других авторов. Удивительно соответствие этого максимума поглощению «красной» фотовосстановленной формы хлорофилла.

Опыты Осиповой и Тимофеевой⁹⁹ показали высокое содержание основных аминокислот в белках гранул; основываясь на этих данных, Раков и Кениг⁹ указали на возможность наблюдения фотовосстановленной формы хлорофилла в опытах Витта. Однако не ясно — сохраняется ли в этих опытах соотношение величины падения оптической плотности в красном максимуме поглощения хлорофилла и максимуме при 520 $\text{m}\mu$, наблюдающемся при фотовосстановлении. Понятно, что условия кислотно-основного равновесия в хлоропластах могут сильно отличаться от условий в пиридиновых растворах и обратимое фотовосстановление хлорофилла может идти и без накопления «красной» формы⁹¹.

Если природу появления максимума поглощения при 515—520 $\text{m}\mu$ в листьях пока нельзя считать ясной, то весьма вероятно, что обратимое изменение красного максимума поглощения хлорофилла можно приписать фотовосстановлению.

Вероятно, для выяснения сущности превращения хлорофилла в листьях многое даст использование методов флуоресцентной спектроскопии. Измерения Литвина¹⁰⁰ показали наличие в живых зеленых листьях максимумов флуоресценции, лежащих в области фотовосстановленных форм хлорофилла, однако сейчас еще трудно дать их определенную интерпретацию.

Требуется также выяснить, связано ли с явлением элементарного фотовосстановления хлорофилла появление полос парамагнитного резонанса, наблюдавшееся в опытах Коммонера¹⁰¹, а затем Кальвина с сотрудниками¹⁰².

Явление хемосинтетической люминесценции, наблюдавшееся в листьях растений, суспензиях хлоропластов и в растворах хлорофилла, указывает на возможность образования сходных фотопродуктов во всех этих случаях.

VI. РЕАКЦИЯ ОБРАТИМОГО ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЯ И ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ УЧАСТИЯ ХЛОРОФИЛЛА И ЕГО АНАЛОГОВ В ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Изложенный выше материал показывает, что для хлорофилла и вообще всех порфириновых пигментов чрезвычайно характерна способность к обратимому фотохимическому восстановлению — обратимому восприятию электрона (водорода) от молекул-доноров. Мы уже высказывали предположение, что это свойство может играть роль при осуществлении элементарных процессов участия хлорофилла и его аналогов в реакциях фотосинтеза и при других фотобиологических явлениях.

1. ФОТОСИНТЕЗ (см. обзор ¹¹²)

В изложенных выше работах удалось установить, что фотосенсибилизирующее действие хлорофилла в реакциях фотохимического переноса водорода (электрона) определяется его способностью к обратимому фотовосстановлению.

В световом акте реакции возбужденная молекула пигмента воспринимает электрон (водород) молекулы-донора, в темновом акте — передает его молекуле-акцептору. Эти работы дают возможность обосновать рабочую гипотезу, что и при фотосинтезе хлорофилл участвует в процессе обратимого переноса электрона (с его подъемом выше уровня восстановленных пиридиннуклеотидов), что согласуется с рядом исследований, показавших возможность фотовосстановления пиридиннуклеотидов в супензиях хлоропластов и в листьях растений ¹⁰³⁻¹⁰⁵.

Представление об участии хлорофилла в процессе переноса электрона с промежуточным образованием свободных радикалов согласуется с результатами измерений электронного парамагнитного резонанса в хлоропластах и в листьях растений ^{101, 102} и наблюдениями о наличии весьма слабого длительного послесвечения (хемилюминесценции) после освещения листьев растений ⁶⁶.

Накопившийся ныне экспериментальный материал указывает, что для работы цикла энзиматических реакций восстановления углекислоты следует обеспечить фотохимическое образование восстановленных пиридиннуклеотидов и богатых энергией фосфорных эфиров.

Фотохимический перенос электрона (водорода) «вверх» до уровня восстановленных пиридиннуклеотидов обеспечивает возможность действия цикла ассимиляции углекислоты согласно схеме Кальвина ¹⁰⁶. Образование богатых энергией фосфорных эфиров, нужных для функционирования цикла восстановления углекислоты, происходит в согласии с работами Арнона ¹⁰⁷ путем анаэробного фотосинтетического фосфорилирования, при котором образование аденоzinтрифосфата из аденоzinдинфостата и неорганического фосфата происходит за счет окислительно-восстановительных процессов — темновых реакций, активных фотопродуктов, идущих с участием биокаталитических систем — цитохромов, производных нафтохинона (витамина К) и др. Таким образом, спуск «вниз» фотохимически мобилизованного электрона обеспечит возможность осуществления фосфорилирования и «запасания» энергии в аденоzinтрифосфате.

2. ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПОРФИРИНОВ

В основе этого явления лежит фотосенсибилизированное красителем фотоокисление жизненно-важных метаболитов или белков, приводящее к гемолизу эритроцитов и ряду далеко идущих нарушений нормальных функций организмов ¹⁰⁸. До сих пор нельзя считать ясным механизм первичного фотохимического процесса, лежащего в основе фотодинамического действия. Изложенные здесь исследования механизма фотосенсибилизирующего действия порфиринов позволяют обосновать гипотезу об элементарном фотовосстановлении пигмента в качестве первичного акта в этом процессе. Так, в наших работах была установлена способность порфиринов к обратимому фотовосстановлению диснолами, цистеином, рядом других органических соединений.

Окисление фотовосстановленных форм порфиринов кислородом или другими окислителями приводит к обратной регенерации исходной молекулы пигмента. В этом процессе, так же как и в случае хлорофилла, наиболее активны ион-радикальные формы пигментов. Можно предположить, что механизм элементарных процессов фотодинамического действия соответствует схеме фотосенсибилизированных порфиринами реак-

ций, приведенной выше (см. стр. 753); AH_2 соответствует молекуле окисляющегося метаболита (аминокислоте в белках и т. д.), X — молекуле пигмента-порфирина.

3. ДРУГИЕ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Изучение спектров действия различных фотобиологических процессов — фотопериодизма, прорастания семян под действием света и т. д. в работах Бортвика, Гендрикса и сотрудников¹⁰⁹ привело к обнаружению максимума спектра действия при $650 \text{ m}\mu$; эффект красного света устранился последующим освещением с максимумом спектра действия при $740 \text{ m}\mu$.

Эти наблюдения привели авторов к гипотезе о наличии пигментной системы, претерпевающей обратимые фотохимические превращения с образованием фотопродуктов, обладающих взаимосвязанными максимумами поглощения при 650 и $740 \text{ m}\mu$.

Такого рода переходов пигментов пока не удалось найти в растениях. Мы уже указывали выше, что удалось наблюдать обратимое фотовосстановление порфиринов, ведущее к образованию фотопродуктов с максимумом поглощения $740 \text{ m}\mu$; существенно то, что освещение инфракрасным светом ускоряло обратную реакцию этих фотопродуктов¹¹⁰.

Возможно, что обратимое образование продуктов фотовосстановления порфириновых пигментов может играть роль и в ряде фотобиологических процессов такого типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хлорофилл, его аналоги и производные обладают способностью к реакции обратимого фотохимического восстановления. При реакции образуются фотопродукты, запасающие энергию света; в темновом акте процесса эти фотопродукты претерпевают обратные реакции, ведущие к образованию исходной молекулы пигмента. Способность хлорофилла и его аналогов к обратимому фотовосстановлению лежит в основе фотосенсибилизирующего действия этих пигментов в окисительно-восстановительных реакциях.

Полученные экспериментальные данные дают основание для рабочей гипотезы, что способность хлорофилла и его аналогов к реакциям фотохимического переноса электрона (водорода) может быть связана с участием этих пигментов в фотобиологических процессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Красновский, ДАН, **60**, 421 (1948).
2. А. А. Красновский, ЖФХ, **30**, 968 (1956); J. Chim. Phys., **1958**, 968.
3. А. А. Красновский, Г. П. Брин, К. К. Войновская, ДАН **69**, 393 (1949).
4. А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, **89**, 527 (1953).
5. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **91**, 899 (1953).
6. E. Rabinowitch, Photosynthesis, vol. II, part 2, 1519, Interscience, N. Y., 1956.
7. H. Linshitz, S. J. Weissman, Arch. Biochem. Biophys., **67**, 491 (1957).
8. V. H. Lynch, C. S. French, Carnegie Inst. Year Book, **54**, 166 (1954—1955).
9. B. Rackson, H. Köpig, Ztschr. Electrochem., **62**, 482 (1958).
10. T. T. Bannister, Dissc. Abstr., **49**, № 10, 2438 (1959).
11. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **74**, 781 (1950).
12. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **96**, 1201 (1954).
13. В. Б. Евстигнеев, ЖФХ, **32**, 969 (1958).
14. А. S. Holt, в книге Research in Photosynthesis, Interscience, N. Y., 1957, стр. 55.
15. А. А. Красновский, К. К. Войновская, ДАН, **64**, 663 (1949).
16. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **118**, 1146 (1958).
17. А. А. Красновский, К. К. Войновская, ДАН, **81**, 879 (1951).
18. А. А. Красновский, Е. В. Пакшина, ДАН, **127**, 913 (1959).
19. А. А. Красновский, К. К. Войновская, ДАН, **96**, 1209 (1954).
20. А. А. Красновский, Е. В. Пакшина, ДАН, **120**, 581 (1958).
21. А. А. Красновский, А. В. Умрихина, ДАН, **122**, 1061 (1958).

22. Н. В. Вострилова, В. И. Дулова, ДАН, УзССР (1958), № 5, 19.
23. М. С. Ашканизи, Б. Я. Даин, ДАН, 80, 385 (1951); 102, 767 (1955).
24. Б. Я. Даин, Тезисы докладов II Всесоюзн. конфер. по фотосинтезу, Изд. МГУ, М., 1957.
25. А. А. Красновский, К. К. Войновская, Биофизика, 1, 120 (1956).
26. А. А. Красновский, ДАН, 103, 283 (1955).
27. А. А. Красновский, В. А. Гаврилова, ДАН, 81, 1105 (1951).
28. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 98, 1017 (1954).
29. А. А. Красновский, Н. Н. Дроздова, Е. В. Пакшина, Биохимия, 25, № 2 (1960).
30. А. А. Красновский, В. Б. Евстигнеев, Г. П. Брин, В. А. Гаврилова, ДАН, 82, 947 (1952).
31. К. А. Тимирязев, Nature, 32, 342 (1885); 34, 52 (1886).
32. R. Kuhn, A. Winterstein, Ber., 66, 1741 (1933).
33. P. Rothemund, Cold Springs Harb. Symp. Quant. Biol., 3, 71 (1935).
34. Л. М. Кособуцкая, А. А. Красновский, ДАН, 74, 103 (1950).
35. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 108, 507 (1956).
36. В. Ф. Гачковский, Биофизика, 4, 19 (1959).
37. А. А. Красновский, Ю. Е. Ерохин, Биофизика, 1960, в печати.
38. А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 73, 1239 (1950).
39. E. Rabinowitch, J. Chem. Phys., 8, 551, 560 (1940).
40. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 92, 381 (1953).
41. W. Hendrich, Roczn. chem., 32, 107 (1958).
42. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 103, 97 (1955).
43. G. Oster, в книге Research in Photosynthesis, Interscience, N. Y., 1955.
44. А. А. Красновский, А. В. Умрихина, ДАН, 104, 882 (1955).
45. А. А. Красновский, А. В. Умрихина, Биофизика, 3, 547 (1958).
46. R. Hill, Nature, 174, 501 (1954).
47. А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 96, 1025 (1954).
48. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 115, 530 (1957).
49. D. Porret, E. Rabinowitch, Nature, 140, 321 (1937).
50. R. Livingston, J. Phys. Chem., 45, 312 (1941); 52, 622 (1948).
51. R. Livingston, V. R. Yau, J. Am. Chem. Soc., 75, 2176 (1953).
52. R. Livingston, в книге Research in Photosynthesis, Interscience, N. Y., 1957, стр. 3.
53. H. Linshitz, J. Reppert, Nature, 169, 193 (1952).
54. H. Linshitz, T. W. Abrahamson, в книге Research in Photosynthesis, N. Y. Interscience, 1957, стр. 31.
55. А. Н. Теренин, А. В. Калякин, Е. Б. Любомудров, П. Э. Сушинский, Е. Д. Дмитриевский, Оптика и спектроскопия, 1, 456 (1956).
56. А. Н. Теренин, General Discussion of Faraday Soc., April, 1959.
57. А. А. Красновский, в сб. Вопросы химической кинетики, Изд. АН СССР, 1955, стр. 92.
58. А. А. Красновский, J. Chim. Phys., 1958, 968.
59. E. Fujimoto, R. Livingston, Nature, 180, 1036 (1957).
60. А. А. Красновский, Биофизика, 4, 3 (1959).
61. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, А. А. Красновский, ДАН, 74, 315 (1950).
62. N. Uri, J. Am. Chem. Soc., 74, 5808 (1952).
63. J. L. Rosenberg, Ann. Rev. Plant Physiol., 8, 115 (1957).
64. В. Сотопет, Персональное сообщение на IV Международном биохимическом конгрессе, Вена, 1958.
65. Н. Бубнов, А. Красновский, А. Умрихина, В. Цепалов, В. Шляпинтох, Биофизика, 5, 121 (1960).
66. B. L. Strehler, W. A. Arnold, J. Gen. Physiol., 34, 809 (1951).
67. P. Rothemund, J. Am. Chem. Soc., 60, 2005 (1938).
68. J. Helberger, Naturwiss., 26, 316 (1938).
69. Ф. Ф. Литвин, Ю. А. Владимиров, А. А. Красновский, Усп. физ. наук, 74, № 1 (1960).
70. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, А. А. Красновский, ДАН, 70, 261 (1950).
71. А. Н. Теренин, Фотохимия красителей, Изд. АН СССР, 1947.
72. А. А. Красновский, ДАН, 61, 91 (1948).
73. А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 67, 325 (1949).
74. Красновский, К. К. Войновская, ДАН, 87, 109 (1952).
75. J. Bohi, Helv. Chim. Acta, 12, 121 (1929).
76. J. C. Ghosh, S. B. Sen-Gupta, J. Indian Chem. Soc., 11, 65 (1934).
77. Г. П. Брин, А. А. Красновский, Биохимия, 22, 776 (1957).
78. А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 58, 1087 (1947).
79. А. А. Красновский, ДАН, 58, 617 (1947).
80. А. А. Красновский, ДАН, 58, 836 (1947).
81. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 127, 198 (1958).

82. J. Weiss, Trans. Faraday Soc., **32**, 1331 (1936).
83. А. А. Красновский, Г. П. Брик, ДАН, **53**, 447 (1946).
84. А. А. Красновский, Проблемы кинетики и катализа, Изд. АН СССР, Москва, **8**, 40 (1955).
85. В. Б. Евстигнеев, А. Н. Теренин, ДАН, **81**, 223 (1951).
86. Л. М. Воробьева, А. А. Красновский, Биохимия, **21**, 126 (1956).
87. А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, **63**, 163 (1948).
88. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **126**, 410 (1956).
89. А. А. Красновский, Л. М. Воробьева, Е. В. Пакшина, Физиология растений, **4**, 124 (1957).
90. А. А. Красновский, Л. М. Воробьева, Е. В. Пакшина, Физиология растений, **4**, 124 (1957).
91. Л. М. Воробьева, А. А. Красновский, Биохимия, **23**, 760 (1958).
92. А. Н. Теренин, В. Л. Ермолев, ДАН, **85**, 547 (1952).
93. А. Н. Тегепіп, В. Л. Егмоляев, Trans. Faraday Soc., **52**, 1042 (1956).
94. J. W. Coleman, A. S. Holt, E. Rabinowitch, Science, **123**, 795 (1956).
95. J. W. Coleman, E. Rabinowitch, J. Phys. Chem., **63**, 30 (1959).
96. H. T. Witt, Naturwiss., **42**, 72 (1955).
97. L. M. Duysens, Science, **120**, 353 (1954).
98. Л. Н. Белл, ДАН, **107**, 329 (1956).
99. О. П. Осипова, И. Тимофеева, ДАН, **74**, 972 (1950).
100. Ф. Ф. Литвин, А. А. Красновский, ДАН, **120**, 764 (1958).
101. В. Сотопег и другие, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., **42**, 710 (1956).
102. B. Sogó, N. Rop, M. Calvin, там же, **43**, 387 (1957).
103. W. Vishniac, S. Ochoa, Nature, **167**, 768 (1951).
104. L. Tolmach, Arch. Biochem., **33**, 120 (1951).
105. D. J. Arnon, Nature, **167**, 1008 (1951).
106. M. Calvin. Conference et rapports. 3-ème Congrès Intern. de Biochimie, Liege, 1956, стр. 211.
107. D. Arnon, Science, **122**, 9 (1955).
108. H. Blum, Photodynamic action and diseases caused by light, 1940.
109. H. A. Bortwick, S. B. Hendricks и другие, Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., **38**, 662 (1952).
110. А. А. Красновский, К. К. Войновская, ДАН, **112**, 911 (1957).
111. В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, **114**, 1066 (1957).
112. А. А. Красновский, Первичные процессы фотосинтеза, Ann. Rev. Plant Physiology, **11** (1960).

Ин-т биохимии им. А. Н. Баха
АН СССР