第2卷 第4期
1985年12月

应 用 化 学
Chinese Journal of Applied Chemistry

Vol. 2 No. 4
Dec. 1985

单线态分子氧的产生和体外叶绿素 *a* 的结构状态

恽 勤 王翠英 阎作琨
（中国科学院长春应用化学研究所）

叶绿素 *a*（Chl *a*）是光合作用光量子的接受器和光能最初传递体。早期研究表明，在光合器官中，Chl *a*长波主吸收带位于红区。1969年Krasnovsky指出，Chl *a*受光照射时有可逆氧化还原反应。继而 Politzer[1] 提出Chl *a* 作为光敏化剂，可使三线态分子氧敏化生成单线态分子氧。为模拟研究植物体内Chl *a*分子的存在状态，Katz[2] 指出Chl *a* 在不同极性溶剂中，可得到与体内相应的各种状态，即在极性溶剂中为单分子状态，在中等极性溶剂中是二聚体形式，在非极性溶剂中，则是低分子量的多聚体状态。Chl *a*分子的不同聚集状态结构与它光敏化生成单线态分子氧的关系，至今未见报导。

在甲膦类化合物被Chl *a* 光敏氧化的研究中[3]，我们验证了它们的氧化是单线态分子氧的氧化反应，并检测了氧化产物。本文就Chl *a* 在不同溶剂中的结构状态，以氧化产物中的苯酚作指标，进一步探讨Chl *a* 与单线态分子氧的生成关系。

实 验 部 分

材料和方法：Chl *a* 由上海植物生理研究所提供，使用前经过蔗糖柱分离提纯和干燥。TF 和 TF—OCH_3 经重结晶，熔点分别为168°—170℃及150°—152℃。乙醇为优级纯，四氯化碳和正己烷用常规方法纯制，并严格除水。其他溶剂均为分析纯。Chl *a*浓度为 0.1mg/ml。TF 和 TF—OCH_3 浓度为 0.1mg/ml。配制成相应不同极性的溶液后，各取 1 ml，避光放入安瓶中，然后在氦-氖激光器光路上，光照 2 分钟，避光下抽取反应后溶液，用气相色谱检测苯酚含量

仪器和光谱数据：氦-氖激光器为上海激光技术研究所制造，$\lambda = 6328$ Å，输出功率 35mW。UV 光谱仪为 Varian DMS-90 型。荧光光谱仪为 HITACHI MPF-4 型。气相色谱为上分厂 100 型。核磁共振仪为 JEOL，FTX-100MHz 型。

Chl *a* 的荧光光谱示于图 1。

Chl *a* 的吸收光谱（红区）：λ_{max}^{EtOH} (nm) 663, 615, 580, 535, 500；$\lambda_{max}^{CCl_4}$ (nm) (678), 664, 615, 575, 530；$\lambda_{max}^{n\text{-}C_6H_{14}}$(nm) 744, 678, 662, 615, 575, 530。

Chl *a*的^{1}H-NMR谱（100MHz，氘代丙酮-d_6/TMS）δ(ppm)：9.61(S,1H,β-H), 9.28(S, 1H, α-H), 8.46(S, 1H, δ-H), 8.04(dd, 1H, J = 11Hz, 18Hz, 2a-H_x),

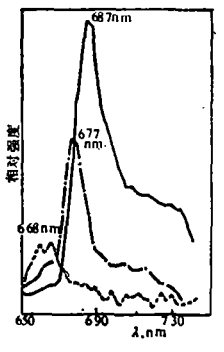
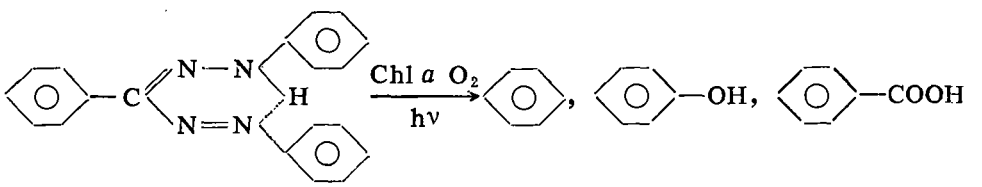


图 1 Chl *a*的荧光光谱
————在乙醇中，
·—·—· 在四氯化碳中
……在正己烷中。
〔chl *a*〕= 7.1×10^{-5}M

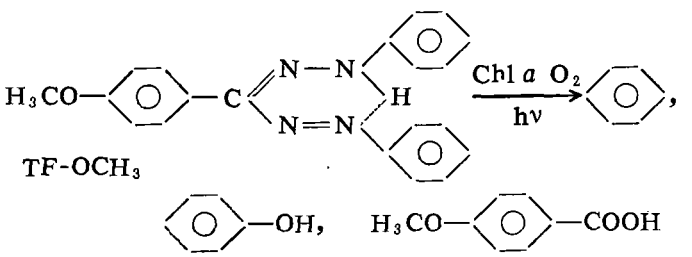
6.15 (dd, 1H, J = 2Hz, 18Hz, 2b-H_B), 5.94(dd, 1H, J = 2Hz, 12Hz, 2b-H_A), 6.16 (S, 1H, 10-H), 5.02 (*t*, 1H, P-2-H), 4.38(m, 3H, P-1-H,7-H, 8H), 3.83 (S, 3H, 10b-CH_3), 3.82 (*g*, 2H, 4a-CH_2), 3.54 (S, 3H, 5a-CH_3), 3.28(S, 3H, 1a-CH_3), 3.21 (S,3H,3a-CH_3), 2.34(m, 4H, 7ab-2 (CH_2)); 1.75 (d, 3H, J = 7Hz, 8a-CH_3), 1.68(t, 3H, J = 7Hz, 4b-CH_3), 1.51(S, 3H, P-3-CH_3), 1.25(S, 3H, P-7-11-15-CH), 1.18 (S, 宽线, 18H, P-4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14-CH_2), 0.87, 0.81 (S, S, P-7a, 11a, 15a, 16-CH_3)。谱峰归属参考了 Scheer 的工作[4]。在四氯化碳及正己烷溶剂中谱峰分辨不开，不能辨认其归属（图略）。

结 果 与 讨 论

用乙醇、丙酮、乙醚、二氧六环、石油醚、正己烷、苯和四氯化碳等溶剂做为Chl *a* 光敏氧化 TF 和 TF-OCH_3 的介质，其反应如下：



TF



TF-OCH_3

其中苯酚的生成量与溶剂的极性有关。取不同极性的三种典型溶剂：乙醇、四氯化碳、正己烷的光敏氧化体系，做了精细的测定（表 1）得出，同一浓度的Chl *a* 在 6328 Å 光波的作用下，苯酚在乙醇中生成量最高，四氯化碳中次之，正己烷中检测不到。

这一现象与溶剂中Chl *a* 的荧光发射强度一致（见图 1）。

表 1 不同溶剂体系的苯酚生成量

溶剂	底物	
	TF	TF-OCH_3
	苯酚生成量 (μmol)	
乙醇	0.18	0.23
四氯化碳	0.06	0.08
正己烷	0.00	0.00

〔Chl *a*〕 0.1 mg/ml
〔TF/TF-OCH_3〕 0.1 mg/ml

根据 Kearns[5] 的研究，单线态分子氧的寿命，在乙醇中为 12 μs，四氯化碳中为 700 μs 正己烷中为 17 μs。乙醇中它的寿命最短，但苯酚的产率几乎是四氯化碳中的三倍，而正己烷中却测不出来。又，分子氧在这三种溶剂中的扩散系数[6]，没有倍数关系，因此苯酚的产率与单线态分子氧在溶剂中的存在情况没有直接关系。

可见单线态分子氧的生成浓度应决定于激发态Chl *a*的荧光发射强度，而不同溶剂中Chl *a*的荧光发射能力不同。为此我们研究了Chl *a* 在不同极性溶剂中的状态结构，其谱图数据结果与 Katz[2] 及 Fong[7] 的结果相同。在乙醇等极性溶剂中呈单分子态，Chl *a* 分子的给电子基团（C-9 酮基）与亲电子基团（Mg 离子）与极性溶剂配位，在 Chl *a* 的分子间构成大π键共平面体系，导致它的荧光发射强度比 Chl *a*二聚体和多聚体要强。在四氯化碳等中等极性溶剂中，Chl *a*分子通过它们的结合水，使一个分子的给电子基与另一个分子的亲电子基形成水合二聚体 $(Chl\ a\cdot H_2O)_2$。Fong[7] 指出如果这个结合水的含量小于 $5\times10^{-3}M$，则红区吸收在 678nm处有肩峰（图 2）大于这个含水量则消失。严格除水，则形成无水二聚体$(Chl\ a)_2$。二聚体的形成降低了Chl *a* 分子 π 键的平面度，荧光强度下降。在非极性溶剂中，含结合水的Chl *a*分子形成$(Chl\ a\cdot 2H_2O)_n$的多聚体状态，在 744nm处出现它的特征峰（图 2）。它们的分子通过结合水层层重迭，π键平面度大大下降，且这种结合水导致了Chl *a*在非极性介质中微弱的荧光发射。Chl *a* 的荧光发射是我们研究体系单线态分子氧产生的原因，其强度决定了单线态分子氧产生的浓度。Chl *a*分子的状态结构不同，荧光发射强度不同，导致了 TF 和 $TF\text{-}OCH_3$ 光敏氧化产物之一的苯酚产率的差别。

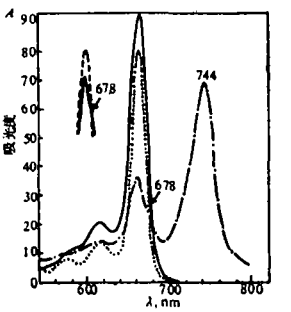


图 2　Chl *a* 在不同极性溶剂中的红区吸收光谱

——在乙醇中，……四氯化碳中（左侧－－－为四氯化碳中严格除水的 Chl *a*），－·－·正己烷中 $(Chl\ a)\sim10^{-5}M$

致谢：承蒙吴学周教授，朱晋锡先生的指教与审阅，特此感谢。

参　考　文　献

〔1〕I.R.Politzer, G, W.Griffin anb J.L.Laseter, *Chem-Bio. Intereaction*, 3, 73(1973).
〔2〕J.J.Katz, in "The Porphyrin" 5, D.Dolphin(ed.), New York, p401(1978).
〔3〕王翠英，恽勤，郭德良，分子科学与化学研究，(1)，115，(1984)。
〔4〕A.Scheer, and J.J.Katz, in "Porphyrin and Metalporphyrins", K.M.Smith (ed.), Amsterdan, p399(1975).
〔5〕D.R.Kearns, in "Singlet Oxygen", H.H.Wesserman and R.W.Murray (eds.), New York, p120(1979).
〔6〕"CBC" Handbook of Chemistry and Physics, 1977—1978, 58th, F61.
〔7〕F.K.Fong and V.J.Koester, *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 6888(1975).

（收稿：1984年12月4日，修改稿：1985年4月5日）

THE FORMATION OF SINGLET OXYGEN AND THE DIFFERENT STATE OF CHLOROPHYLL A IN VITRO

Yun Qin, Wang Cuiying and Yan Zuokun
(Changchun Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica)

Abstract

In this paper the correlation between different structure state of chlorophyll a (Chl a) in vitro and the amounts of singlet oxygen formed has been investigated, used as a photosensitizer. Chl a of different structure state in vitro showed different ability to excite triplet molecular oxygen into singlet form. 1,3,5-Triphenylformazan (TF) and 1,3-diphenyl-5-p-methoxyphenyl formazan (TF-OCH_3) was used as the quencher for singlet oxygen and phenol as indicator for oxidation products. Irradiation of the mixed system (Chl *a* + TF/TF − OCH_3 + solv.) was carried out with a He-Ne laser (6328Å). It was found that phenol had the highest relative yield in alcohol, medium in CCl_4 and the lowest in C_6H_{14}. The results were considered to be related to the difference of structure state of Chl a in solvents of different polarity.

常州阻尼器材联合公司开业

常州阻尼器材联合公司以解决四化建设中振动与噪声控制方面的重大问题为己任。

本公司由中国科学院长春应用化学研究所、西安交通大学、同济大学声学研究所和常州有机化工厂、兰陵橡胶厂、金坛消音隔热材料厂及上海机械学院等单位组成，是一个跨地区、多学科的国、集合营企业。

公司业务范围：研究、设计和生产适用于舰船、飞机和环保等各类工业部门，特别是汽车工业所需的减振降噪阻尼材料和元器件；承接各类工业产品、工程系统的减振降噪研究任务及内饰降噪工程；承接各类阻尼器材的测试；提供阻尼技术服务。

公司本部和下属开发部设在常州兰陵橡胶厂内。热诚欢迎各界前来洽谈业务。

电话：23876、23816
电报挂号：2895