

叶 绿 素 a 的 结 构 与 功 能

梅 镇 安

(北京大学生物系)

自从二百多年前发现光合作用以来,为了了解其作用机制及叶绿素的特殊功能,许多化学家从叶绿素 a 的分子结构入手进行了不懈的努力。1838 年 Berzelius 首先开始这方面的工作。到 1851 年 Verdeil 第一个猜想叶绿素 a 与血红素之间具有相似性。后来 Hoppe-Seyler 将叶绿素转化成类似血红素中得到的红色“卟啉”,证实了这一猜想。这是叶绿素结构研究迈出极其重要的一步。从此这方面的工作走上了健康发展的轨道。

确定叶绿素分子结构的工作大部分是本世纪初期,由德国人 Willstätter 和 A. Stoll 以及到 1940 年前后著名的有机化学家 Hans Fischer 等完成的。1960 年有机化学家 Robert Woodward 合成了这个天然色素,因而获得了 1965 年的诺贝尔化学奖金。叶绿素 a 与细菌叶绿素 a 的分子结构如图 1 所示。

高等植物与绿藻中含有叶绿素 a 与 b,在其他藻类中还有少量的叶绿素 c 与 d;光合作用中只有叶绿素 a 有光化学活性。本文只讨论叶绿素 a 的结构与功能。

一、从叶绿素 a 的分子结构看它的功能

将叶绿素 a 的分子结构与其他具有光化学活性的原卟啉 IX 比较,在分子结构上,叶绿素 a 有下列几方面的改变:

- i. 金属镁原子的介入;
- ii. 4-乙烯基还原成乙基;
- iii. 经过酯化6-丙酸及氧化作用形成酮基
又与 γ -CH 桥形成环 V;
- iv. 环 IV 被还原到二氢吡咯水平;
- v. 以叶醇酯化 7-丙酸。

在光合作用中这些结构的改变,究竟起什么作用呢? 目前尚无满意的答案。

卟啉的金属衍生物是生物体内的一类重要物质,血红素就是含铁的卟啉化合物,而叶绿素又是含镁的卟啉,血红素与叶绿素有迥然不同的使命。镁在光合作用过程中承担了什么任务,又如何来完成这个任务? Barboi 等人^[1]用极谱法测定叶绿素 a 与用锌置换镁的去镁叶绿素 a 的氧化还原半波电位,分别为 +0.62 V 与 +0.75 V,由此可见,镁原子的主要功能是将叶

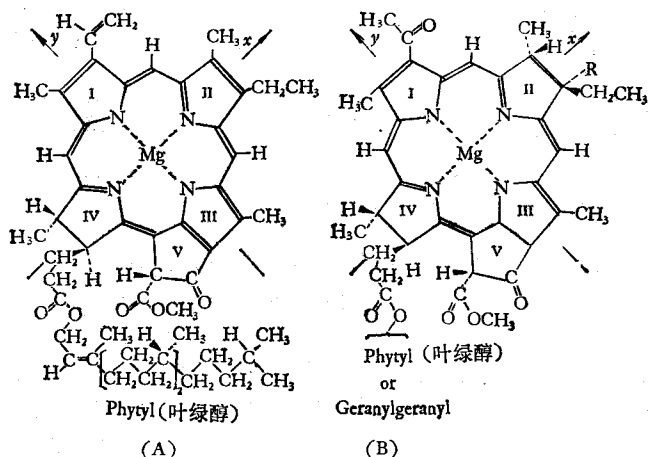


图 1 叶绿素 a(A) 与细菌叶绿素 a(B) 的分子结构式

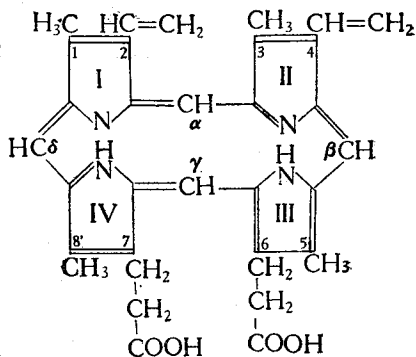
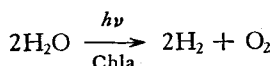


图 2. 原卟啉 IX 的分子结构

绿素分子基态与激发态的氧化还原电位调节到一个适当的数值。从 Seely^[2] 的报告可以看出锌取代镁后,并不缩短激发态的寿命。最近 Fong 等人^[3]用去镁叶绿素 a 的多聚结晶体进行水的光解,观察到分子氧的释放,而没有观察到有可测量的氢放出,可能这些应释放的氢气又用于去镁叶绿素 a 的还原。他们用光电作用光谱(photo-galvanic action Spectroscopy)研究了去镁叶绿素 a 与水的光反应,以及有或无去镁叶绿素 a 存在情况下,多聚结晶体(Chla, 2H₂O)_n 与水的光反应,并且将这两种光反应进行了分析比较,认为镁原子保护了叶绿素 a 将水裂解成氢分子与氧分子(如下式所示)的光催化能力。



叶绿素在溶液中极不稳定,但是它的光化学反应是很稳定的。叶绿素 a 的光还原必须在特定条件下进行,而光氧化反应是很易发生的,并且是可逆的。目前尚未发现叶绿素分子有因光而引起内部原子的重新排列或分解的现象。光在某些条件下可以促进脱镁^[4]。当叶绿素分子被还原到二氢卟啉水平时,可使其光化学性质更稳定。

光合作用是在光合膜上进行的。有人认为镁原子亦参与了叶绿素分子与光合膜结合的过程。

环 V 上的 β-酮基酯对氧化还原电位的影响很微弱,可以忽略不计。它对光化学的稳定性较差,且对化学的袭击很敏感。Fong^[5] 提出用分子弛豫理论,解释光合作用中,由低能级向高能转换的假设推测环 V 上的 β 酮基酯的功能。Garcia-Morin 等人于 1969 年应用叶绿素分子的 ESR 光谱亦推测了环 V 上,酮基酯的功能。他们都认为此酮基在形成叶绿素双分子体时具有共体的性能。

在模式系统中尚未发现环 V 参与光化学反应,细菌叶绿素虽然亦有环 V 的结构,但是它不敏化水的光氧化。这个事实间接地支持了以上的现象。有人又认为环 V 上的 β-酮基酯对叶

绿素固定于光合膜的酯类中起了重要作用。

叶绿素 a 分子环 II 上的甲基若换为醛基,即成为叶绿素 b,它的化学活性也随之失去,显然环 II 上的甲基有其特殊功能。

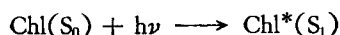
叶绿素分子特有的长尾状叶醇基,是一个近于饱和的碳氢长链,因而缺乏刚度,可任意扭转或折叠。人们普遍认为它是将卟啉环支持于光合膜上的支撑物。

关于 ii 与 iv 的结构上的改变在功能上的意义资料还很少。

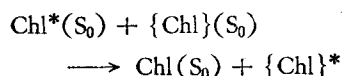
二、从叶绿素的功能看它们分子之间的必要结构

叶绿素的主要功能,可以用下面一系列反应定性地表示:

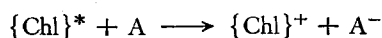
(1) 捕获光能:



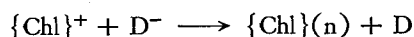
(2) 激发转移:



(3) 光化学反应:



(4) 再生作用:



Chl 与 {Chl} 分别地表示天线与作用中心叶绿素。在反应(1)中,是专一于叶绿素分子的单线基态到最低的单线激发态的激发过程。随后是反应式(2),将能量传递给作用中心叶绿素 {Chl},在作用中心立刻发生光化学反应(3),同时活化了电子受体 A 并产生阳离子 {Chl}⁺。通过反应(4)的再生过程,使阳离子 {Chl}⁺ 从供体 D 中接收一个电子,而恢复到叶绿素的自然状态 {Chl}₀。{Chl}^{*}, {Chl}⁻ 与 {Chl}₀ 等特殊的叶绿素形式到目前为止,还停留在随机符号的阶段。它们的物理与化学的属性还不了解。

1941 年 Smith 与 Pickels^[7] 首先证明叶绿素与蛋白质复合,蛋白质分子分散于叶绿素分子之间。1952 年 Takashima^[8] 得到此复合体的结晶,但不认为这是它存在于绿叶中的自然状

态的。Kahn^[9] 于 1965 年真正得到了这一复合体。近年又证明与此色素分子结合的蛋白质不只一种,而且分子间结合的方式也是多种类型的。

可见光区的吸收光谱是了解光合作用过程中能量转换最广泛应用的实验手段。叶绿素的主要吸收峰位于红区,其溶液的主峰随溶剂的不同而变动于 661—670 nm 之间,这些数据都是在稀溶液 ($10^{-5} M$) 中得到的。但在植物体内,叶绿素的浓度是非常高的。Rabinowitch^[10] 估计浓度可高达 0.2M。Cotton^[11] 等人认为活体与离体的吸收光谱的差异主要是由于叶绿素浓度不同;在离体的稀溶液中,水或其他亲核性溶剂的分子破坏了它们分子之间的聚合。根据在干燥的非极性溶剂中,研究不同浓度 (10^{-6} — $10^{-2} M$) 的叶绿素溶液的吸收光谱,他们提出捕光色素是以无水的多聚体状态 $(\text{Chl}_2)_n$ 存在。设想的双分子体的立体结构如下(图 3)。

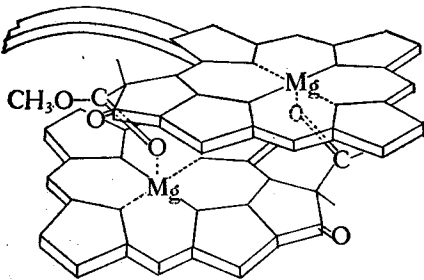


图 3 C_2 对称的 $\text{Chla} \cdot \text{Chla}$ 加合物
按比例绘制的模型代表,显示了交互的 C_{10} 酯
 $C=O \cdots \text{Mg}$ 的连接

但实际上机体的含水量在 90% 左右,要保持严格的无水状态,几乎是不可能的,而且还含有许多其他极性分子。同时在模式系统中尚未有足够的事例能说明这样的状态能传递能量,而且叶绿素分子的无水多聚体或双分子体既无荧光现象,亦无光化学活性。

能量传递的过程中,叶绿素分子有自我猝灭荧光的现象。因此,要使传递效率最高并损耗最少地传给作用中心叶绿素分子,其分子之间就必须有一个合适的距离,以免自我猝灭,或不利于传递。当叶绿素溶液的浓度在 $10^{-1} M$

时,几乎无荧光,活体中叶绿素的浓度几乎接近这个数值。Bedderd 与 Porter^[12] 认为叶绿素分子之间的最短平均距离是 10 Å 时,才能避免自我猝灭。但是,这样的距离对于传递能量很不利,甚至会发生困难。因此,很可能在两个叶绿素分子之间其他的分子如酯类或蛋白质分子存在,即色素分子以一定的距离并规则地排列于酯蛋白网络之中。根据这些事实与设想,人们对于 Anderson^[13] 所提出的酯蛋白镶嵌学说发生极大的兴趣。

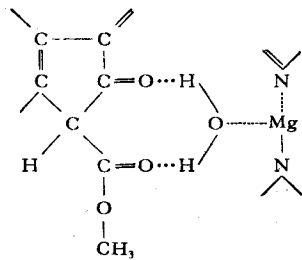
从反应(1)来看,人们可以假设单线态 S_1 与低于 S_1 的最低三线态 T_1 是直接参与原初光化学反应的。这是 Franck 与 Rosenberg^[14] 理论的基础。而他们工作的结论似乎是与活体中有关能量传递的 $S_1 \rightarrow S_0$ 荧光量子产量^[15] 的实验结果相矛盾。因此, Franck^[16] 曾经考虑到可能涉及到一个激发的三线态 T' 的存在。这种三线态 T' 是通过敏化跃迁到低能级三线态的活性中心叶绿素分子才达到的。Feofilov 与 Ovsyankin^[17] 对光合作用中 T' 的激发作用曾经推想这种过程主要结合两个 $S_0 \rightarrow S_1$ 激发作用的量子而产生一个当量的光化学反应,因此与(1)–(4)所预期的一个量子的化学循环反应相抵触。

按照 Franck 理论的设想, S_0 , S_1 , T_1 与 T' 的状态是表示叶绿素 a 分子的本征状态。但是这些状态在离体中看来是没有光活性的,目前人们认为在任何状态下单独叶绿素 a 分子都不能引起光化学反应,只有在聚合中它们才能工作。

为了正确评价电荷转移状态的性质,我们必须弄清作用中心叶绿素 a 分子间的结构排列以及个别作用中心叶绿素分子的物理状态。近二、三十年来人们为了解作用中心色素的结构,进行了生化分离工作,希望得到一个具有光化学活性的最纯最小单位,但至今无结果。因纯色素无光化学活性。它必定是与某些分子,或色素分子之间,具有特殊的空间结构。

首先被人们注意到的是水分子。活体中原初光化学产物含有“成对”的叶绿素分子,而且

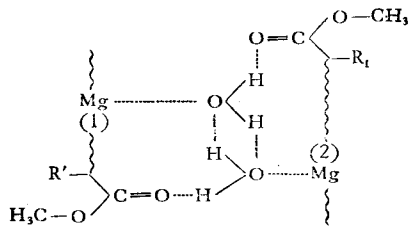
自旋密度是等价地分布于这些“成对”的分子上。一些离体的观察提供了强有力的例证,说明吸收高峰位于 743nm 的光活性基团 A743 是由叶绿素 a 分子通过氢键和配位键与水分子交叉连结而成。最值得注意的活体或离体光诱导所得到的 ESR 讯号非常相似。Katz 与 Norris^[18] 假设具有光化学活性的作用中心色素是由两个叶绿素分子与一个水分子组成。而叶绿素分子与水分子的连结如图结构 A 所示:



结构 (A)
(结构中环状部分为环 V)

按照他们的意见, $\text{—Chl—H}_2\text{O—Chl—}$ 可以多次重复,使叶绿素分子兼有供体和受体的性能。但是,这样的假设与一些实验相矛盾。于是人们又注意到 (1) 二个叶绿素 a 分子在光化学的加成物中必须有等量的电荷分布 (或自旋错位), (2) 叶绿素 a 的二氢卟啉环中, Mg 原子配位是不饱和的, (3) 叶绿素 a 的旋光性是绝对的, (4) 水分子一定在作用中心叶绿素的加成物中起关键性作用。

Fong^[19] 提出了另一个能够满足前面反应 (1) 至 (4) 的全部要求的模式: 两个叶绿素 a 分子的氢化卟啉环是平行的。但是,由两个水分子以互补的位置相连如下面的结构 (B) 所示:



结构 (B)

这个结构有较大的几何自由度。两个叶绿素分

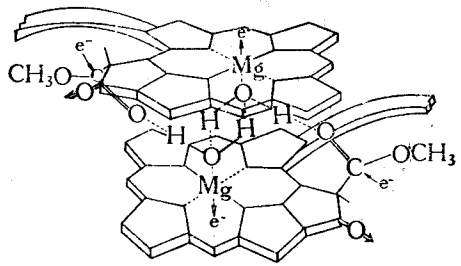
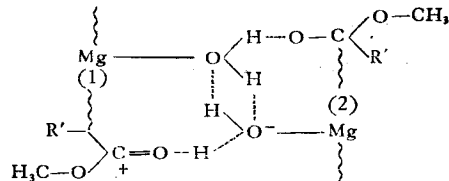
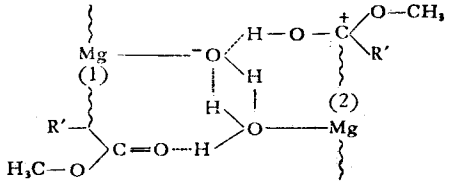


图 4 以三度空间表示作用中心加合物 $(\text{Chla} \cdot \text{H}_2\text{O})_2$

子的大环包括镁原子在内的两个平面之间平行错开形成一定的角度(如 2° 或 7°) 见图 4。

这两个水分子不仅是结构上的需要,而且很可能对作用中心叶绿素提供一个容易接受光诱导的电离状态^[20],使得水质子 (H_3O^+) 转移给羰基的氧原子。在光激发下,它们形成了两个电离状态等同的异构体,如下所示:

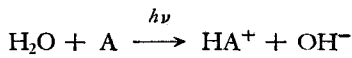


结构 (C)

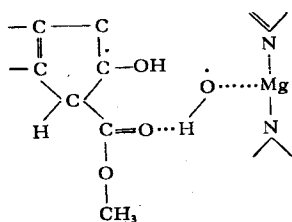
从结构 (B) 的对称性与结构 (C) 中电荷转移,引起了以下一些值得探讨的问题。

电荷转移状态的性质

可以从光诱导的酸碱反应来考虑假想的对称的异构体 (C) 在转移电荷时引起水质子传递给偶极分子问题:

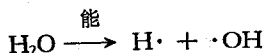


按照 Katz 的设想,结构 (A) 被光量子激发生成双基团结构 (D)



结构 (D)

双基团 (D) 的形成必定先于电荷分离, 由于从结构 (A) → 结构 (D), 从水分子中抽出 H 是由吸热反应开始的。



需要 110.6 大卡, 相应于激发的光子的波长必须不少于 250 nm。但是, 反应 $\text{Chla}(\text{S}_0) \rightarrow \text{Chla}(\text{S}_1)$ 发生于 700 nm 波长, 这个区域的能量远不能满足需要, 甚至完全不可能。因此, 传递质子的反应结构 (B) → 结构 (C) 所需的激发能必定低于 110.6 大卡。已知类似光化学反应中, 只有 C-H 键与含羰基化合物作用时, 最少的活化能必须光波长在 350—400 nm 之间才能激发, 因此对称的异构型 C_2 的加合物必须具备降低电荷转移状态的活化能的特性, 而这种电荷转移状态, 如光合作用的原初光化学反应能在红到蓝的区域触发能量上转换的过程。激发过程所需的能量几乎是加倍的。 S_1 , S_2 , T_1 与假设的电荷转移 (CT) 各级能量的相对位置如图 5):

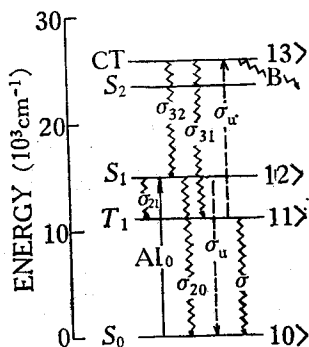
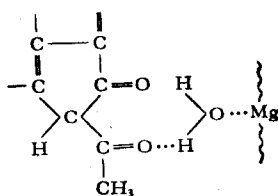
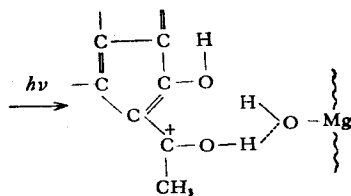


图 5 单线态—三线态能量上转换的示意图
波形箭头表示无辐射跃迁, 直线表示辐射跃迁, 虚线表示上转换

假使在光激发状态中, 环 V 的 β 酮酯以烯醇式存在, 如下式 (E):



a



b

结构 (E)

a. 酮式

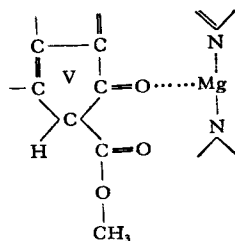
b. 烯醇式

由上式可看出正电荷立刻位移, 进入共轭大环的 π 电子系统, 位移的正电荷进一步稳定了电荷转移状态, 而且必定表现为光诱导的 ESR 基团阳离子的讯号。所有这些都可用分子弛豫理论来解释。

对于电子传递分子、天线叶绿素与作用中心叶绿素之间结构关系的设想

从结构式看镁原子的配位价是 4, 但是, 从红外线吸收光谱^[21] H 与 ^{13}C 的核磁共振的研究^[22,23], 以及用蒸气渗透压力计测定分子量^[24], 均证明配位是不饱和的, 且有成为电子受体的倾向, 然而环 V 的甲氧甲酰羰基与酮基却又表现出供体的性质。叶绿素分子的多种多样的化学性质是与既能作供体又能作受体相联系的。

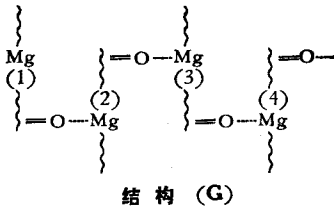
在不存在外界亲核剂时, 叶绿素分子进行分子间反应。如一个分子的环 V 酮基作电子供体, 而另一个分子的镁原子作为电子受体, 如结构 (F) 所示:



结构 (F)

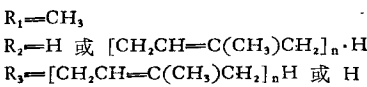
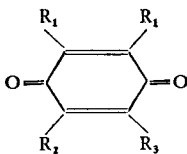
按 Katz 等人的设想, n 个叶绿素分子的

多聚体,组成如下:



他们认为活体的天线叶绿素是无水的低聚链的多聚体^[14],可是最大机率的低聚相互作用与随机组态 (G) 有显著的区别。在 (G) 中,互反的酯基 $C=O \cdots Mg$ 偶合作用被过份重视了。

当有外界的亲核给体与受体存在时,有利于外部的相互作用,因此外部作用代替了内部的相互作用,以 (A) 式与 (B) 式所示的 $Chla-H_2O$ 的相互作用为例,水分子和叶绿素 a 分子一样,亦有显著的给体与受体相结合的性质。在 Katz 等人的模式中,认为水分子无规则地插入叶绿素 a 分子的低聚链^[14],有如作用中心叶绿素分子的 (A) 式结构。与 C_2 对称结构的 (B) 式比较,可以看到两个作用中心 $Chla$ 分子被置于高度特殊化而有序的相互作用之中,由两个水分子所固定的 C_2 结构 (B) 式能很好地被一种内部相互作用所稳定。就是在 (B) 式中两个叶绿素分子的末端成员的 V 环酮基与两条天线叶绿素低聚链末端成员的镁原子之间的相互作用。这种 C_2 对称的结构 (B) 也能很好地被一种外部相互作用进一步稳定。这种外部相互作用产生于作用中心叶绿素分子中 Mg 原子与某些电子传递体(如: 质醌)的给体基团之间。质醌的结构如下:

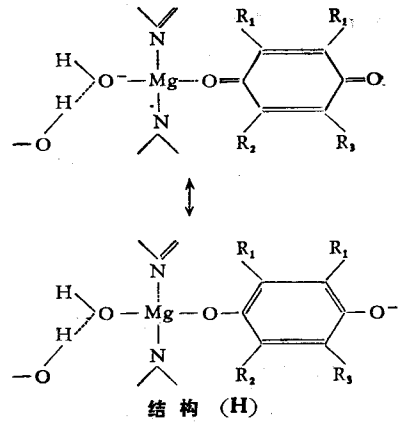


质醌 (PQ) 的结构式

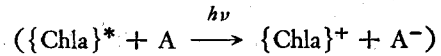
n 是一个正整数,它的数值随植物而异,对于菠菜 $n=3$, 紫花苜蓿 $n=9$ 。

在作用中心叶绿素分子与 PQ 分子之间的典型

耦联如下式结构 (H) 所示:



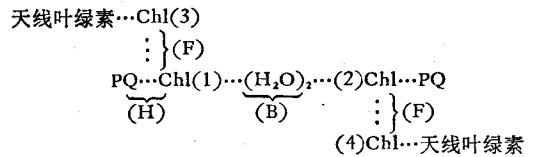
这里只表示了一个对称的作用中心 $Chla$ 加合物结构中的 Mg 原子对质醌的外部相互作用。这为光化学过程



中所发生的电子转移提供了特殊的途径。电荷迁移可以有 (C) 式与 (H) 式的反应。这样才能使质子迁移所需的激发能尽量降低。这也说明了为什么光合作用的光反应可以在红光下进行。

如将 (B), (F) 与 (H) 所表示的相互作用结合起来考虑,我们可以得到天线叶绿素分子,光活性加合物 $(Chla \cdot H_2O)_2$ (即作用中心色素) 和一些典型的电子传递体如 PQ 之间的关系,如图 6 所示。

上面的关系可以简化如下:



可见结构 (B) 的两个 V 环酮基作为结合点,通过两个 (F) 型偶合连接到叶绿素分子 (3) 与 (4),这两个叶绿素分子很可能是两个天线叶绿素系统的末端成员。再与作用中心色素二聚体相连结。保证天线色素分子所俘获的光量子立即传递到作用中心。作用中心色素与天线色素系统必须与外部亲核物质隔绝,以免遭亲

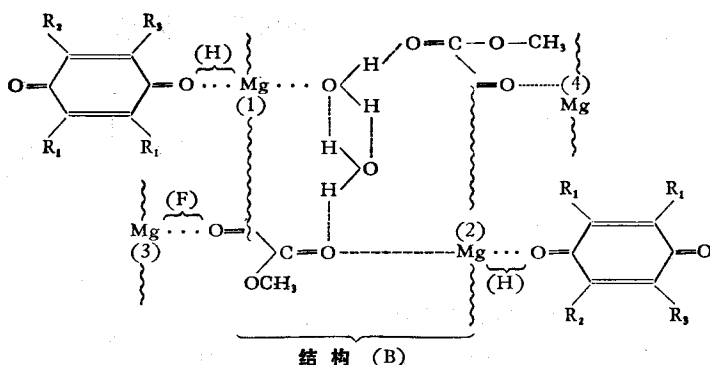


图 6 天线叶绿素,作用中心色素与电子传递体的关系

核物质的破坏,维持其脆弱的平衡。因此,整个聚集光的部件必须被封闭于类囊体中,即进行光合作用的器官必须在细胞中成为独立的细胞器叶绿体。同时为了保持作用中心的特定相互作用的整体性,很可能像图 6 所示结构必须封闭于蛋白质膜套之中。

有一定的结构才能具备一定的功能,功能必须建立在合理的结构上。原初反应是光合作用机理的关键,而叶绿素分子又是原初反应的主角,要攻破原初反应的机理自当以研究叶绿素分子的结构与功能作为其主要内容。这就是当今光合作用研究的重要课题之一。

参 考 文 献

- [1] Barboi, N. I. and Dilung, I. I.: *Biofizika*, **14**, 980, 1969.
- [2] Seeyl, G. R.: *Primary processes of phtotosynthesis*, Chapt. I. (ed. by J. Barber), 1977.
- [3] Fong, F. K. et al.: *Oxygen Evolution from photoreduction of pheophytin a by water, role of the Mg atom in stabilizing Chlorophyll a as photocatalyst for the Water Splitting Reaction*, (未发表, 个人交换资料)。
- [4] Krasnovskii, A. A. and Pakshina, F. V.: *Dokl. Akad. Nauk, SSSR*, **148**, 935, 1963.
- [5] Fong, F. K.: *Appl. Phys.*, **6**, 151, 1975.
- [6] Garcia—Morin, M. et al.: *J. Phys. Chem.*, **73**, 1066, 1969.
- [7] Smith, E. L., Pickels, E. G.: *J. gen. Physiol.*, **24**, 753, 1941.
- [8] Takashima, S.: *Nature*, **169**, 182, 1952.

- [9] Kahn, J. S. et al.: *Photochan. Photobiol.*, **4**, 733, 1965.
- [10] Rabinowith, E.: *Photosynthesis*, **I**, 412, 1945.
- [11] Cetton, T. M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **369**, 181, 1974.
- [12] Beddard, G. S. and Porter, G.: *Nature*, **260**, 366, 1976.
- [13] Anderson, J. M.: *Nature*, **253**, 536, 1975.
- [14] Franck, J. and Rosenberg, J. L.: *J. Theoret. Biol.*, **7**, 276, 1964.
- [15] Rabinowitch, E. et al.: *Photosynthesis*, Wiley, New York, 1969.
- [16] a) Franck, J.: *Research in Photosynthesis, Gatlinburg Symposium 1955* Ed by H. Caffron, 19.
b) Franck, J.: *Handbuch der Pflanzenphy Siologie* (Springer-verlag, 1960) vol. V/1. p689.
- [17] Feofilov, P. P. and Ovsyankin, V. V.: *Appl. Opt.*, **6**, 1828, 1967.
- [18] Katz, J. J. and Norris, J. R.: *Current Topics in Bioenergetics*, (ed. by D. R. Sanadi and D. L. packer) 2d. vol. 5, 41.
- [19] Fong, F. K.: *Theory of Molecular Relaxation application in Chemistry and Biology*, Chapt. 9, 1975.
- [20] Fong, P. K.: a) *J. Theoret. Biol.*, **46**, 407, 1974.
b) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 3692, 1974.
c) *Appl. Phys.*, **6**, 151 (1975).
- [21] Henry, M. and Leicknam, J. P.: *Colloq. Int. Cent. Rech. Sci.*, **191**, 317, 1970.
- [22] Katz, J. J. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 784, 1968.
- [23] Katz, J. J. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 2883, 1972.
- [24] Ballschmitter, K. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **184**, 604, 1969.

[本文于 1980 年 7 月 12 日收到]