

03;09.6;14

Регистрация пространственных распределений синглетного кислорода в воде голографическим методом

© А.В. Белашов³, Д.М. Бельтюкова^{1,2}, О.С. Васютинский¹,
Н.В. Петров³, И.В. Семенова¹, А.С. Чупов¹

¹ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный политехнический университет

³ НИУ информационных технологий, механики и оптики (ИТМО),

Санкт-Петербург

E-mail: Irina.Semenova@mail.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 8 сентября 2014 г.

Разработана методика регистрации пространственного распределения синглетного кислорода в биологических средах. Генерация синглетного кислорода осуществлялась в воде с использованием фотосенсибилизатора Рада-хлорин. Детектирование тепловых возмущений, вызванных безызлучательной дезактивацией синглетного кислорода, проводилось методом голографической интерферометрии. В результате обработки интерферограмм были получены температурные карты, характеризующие процесс дезактивации.

На сегодняшний день важность исследований процессов с участием синглетного кислорода (т.е. молекул кислорода O_2 , находящихся в первом возбужденном синглетном состоянии $a^1\Delta_g$) в биологических средах общепризнана, так как образование и детектирование синглетного кислорода в живых организмах является одной из важнейших проблем современной биохимии и медицины. Являясь химически очень активным, синглетный кислород играет важную роль в химических процессах, происходящих в живых организмах. Синглетный кислород токсичен для большинства биологических молекул и в этом качестве находит важное применение в медицинской практике, в частности, в методах фотодинамической терапии (ФДТ) [1]. Вместе с тем детали процессов образования и дезактивации синглетного кислорода в биологических объектах пока недостаточно изучены, в связи с чем возникает необходимость в разработке надежных методов его детектирования.

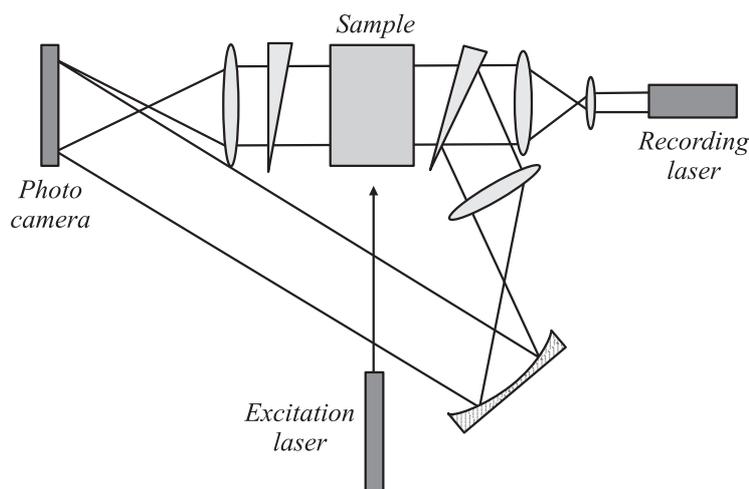


Рис. 1. Оптическая схема установки для регистрации голографических интерферограмм.

Основным методом прямого детектирования синглетного кислорода является регистрация фосфоресценции на длине волны около 1270 nm. Однако поскольку переход из возбужденного синглетного состояния $a^1\Delta_g$ в основное триплетное состояние кислорода $X^3\Sigma_g^-$ запрещен по правилам отбора, квантовый выход фосфоресценции очень мал и сигнал имеет крайне низкую интенсивность [1]. Поэтому разработка дополнительных методов регистрации синглетного кислорода в биологических средах является актуальной задачей.

Цель данной работы состояла в разработке новой методики детектирования синглетного кислорода с помощью голографической регистрации тепловых возмущений в среде, обусловленных его безызлучательной дезактивацией.

Основным методом получения синглетного кислорода является генерация с использованием фотосенсибилизаторов [2]. В нашей работе использовался фотосенсибилизатор Радахлорин[®] (производства компании РадаФарма [3]), который представляет из себя модифицированную природную смесь хлоринов из микроводоросли рода *Spirulina*, около 70–90% которых составляет хлорин e_6 . Этот сенсибилизатор имеет 2

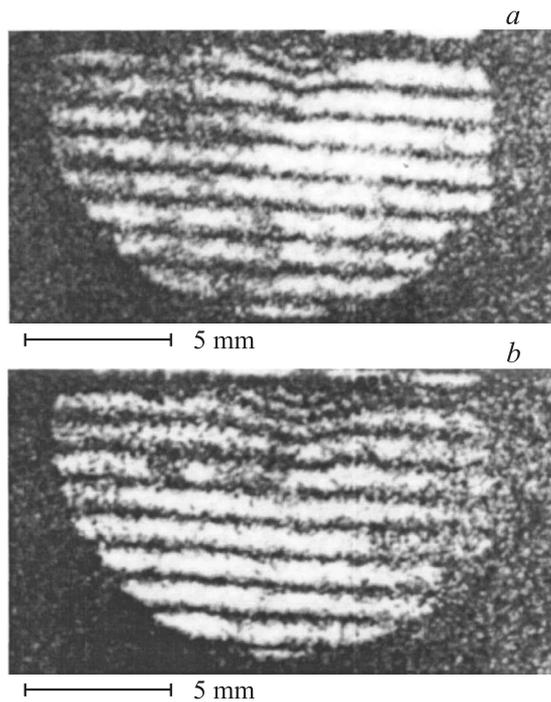


Рис. 2. Интерферограммы тепловых возмущений в водном растворе Радахлорина, полученные на 10-й (*a*) и 20-й (*b*) секунде облучения возбуждающим лазером.

основных максимума поглощения — на 406 и 662 nm и пик флуоресценции на длине волны 668 nm. Согласно данным производителя, квантовый выход флуоресценции составляет 4%, в то время как квантовый выход интерконверсии составляет 96%. Исследования данного фотосенсибилизатора *in vitro* и *in vivo* [4] продемонстрировали, что он обеспечивает эффективную генерацию синглетного кислорода и, таким образом, перспективен для использования в медицинской практике.

Процесс безызлучательной дезактивации синглетного кислорода заключается в передаче энергии от возбужденных молекул кислорода молекулам воды и вызывает выделение тепла в среде, которое приводит

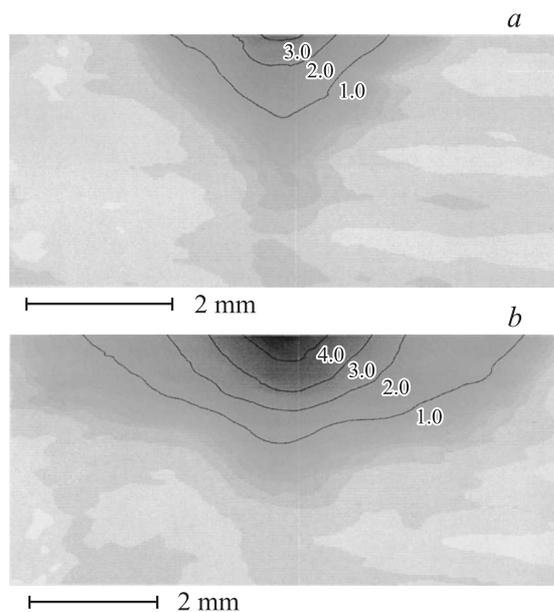


Рис. 3. Увеличенные изображения фрагментов температурных карт, построенных по результатам обработки интерферограмм рис. 2, соответствующие приповерхностному слою воды глубиной 6 mm. На изотермах цифрами обозначено увеличение температуры (в °С) по сравнению с исходной (20°С).

к образованию градиента показателя преломления. В данной работе изменения показателя преломления регистрировались с помощью техники голографической интерферометрии. На рис. 1 приведена оптическая схема установки для регистрации голографических интерферограмм.

В экспериментах 1%-й раствор фотосенсибилизатора в воде помещался в ячейку, а возбуждение фотосенсибилизатора осуществлялось диодным лазером, генерирующим излучение на длине волны 405 nm мощностью 50 mW. Для регистрации тепловых возмущений использовалось излучение импульсного рубинового лазера (длина волны 694 nm, длительность импульса излучения 20 ns). Частота излучения регистрирующего лазера находилась вне полосы поглощения сенсибилизатора, что исключало возможность его дополнительного возбуждения.

В эксперименте регистрировались голографические интерферограммы тепловых возмущений в полосах конечной ширины. На рис. 2 приведены интерферограммы, записанные на 10-й и 20-й секунде от начала облучения возбуждающим лазером.

Для решения задачи восстановления фазы по интерферограммам в работе использовалось специализированное ПО „Fringe Analyser“ (разработанное в СПбНИУ ИТМО), а также программный пакет Mathematica. В результате обработки были получены распределения фазы, по которым строились температурные карты регистрируемой области. Результаты обработки интерферограмм рис. 2 приведены на рис. 3, где показаны увеличенные фрагменты полученных температурных карт. Полученные распределения температуры дают возможность определить такие характеристики, как количество молекул синглетного кислорода, квантовый выход, эффективность процесса дезактивации, а также при использовании цифровой записи на высокоскоростные камеры, временные параметры процессов генерации и дезактивации синглетного кислорода.

Заметим, что существенным преимуществом голографической методики перед другими методами регистрации тепловых возмущений, прежде всего фоторефрактивными и фотоакустическими [5], является возможность одномоментной регистрации пространственного распределения изменений показателя преломления по всей области наблюдения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 14-13-00266.

Авторы благодарят компанию РадаФарма за предоставленный для исследований фотосенсибилизатор Радахлорин, а также М.В. Волкова (НИУ ИТМО) за предоставленное ПО „Finge Analyzer“.

Список литературы

- [1] Schweitzer C., Schmidt R. // Chem. Rev. 2003. V. 103. P. 1685–1757.
- [2] DeRosa M.C., Crutchley R.J. // Coordination Chemistry Reviews. 2002. V. 233–234. P. 351–371.
- [3] <http://www.radapharma.ru/radahlorin.php>
- [4] Douillard S., Olivier D., Patrice T. // Photochem. Photobiol Sci. 2009. V. 8. P. 405–413.
- [5] Braslavsky S.E., Heibel G.E. // Chem. Rev. 1992. V. 92. P. 1381–1410.