

血卟啉 (HP) 在溶液中产生单态氧 1O_2 的 $a^1\Delta_g(v=1) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 跃迁发射光谱

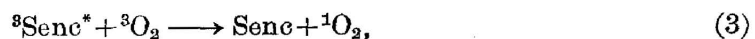
赵永净 张志麟 徐庚武 林钧岫
(大连工学院物理系)

提 要

用 Δr^+ 激光作为激发光源, 检测了血卟啉在水、丙酮和乙醇三种溶液中产生单态氧 1O_2 的 $a^1\Delta_g(v=1) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 跃迁光谱; 给出了磷光相对强度 (1O_2 的量子产额相对值) 与激发光功率、HP 浓度及激发光波长的关系; 用维生素 C 针剂作猝灭剂, 观察了其对单态氧的猝灭作用。

一、引 言

在物理、化学、生物等过程中, 单态氧是普遍存在的中间产物。自三十年代以来, 它的物理、化学和生物特性一直是很多学者感兴趣的课题。例如, 在光敏物质的两种类型 (I 型和 II 型) 光动力学反应中, 单态氧是 II 型反应的中间产物已得到确认^[1~4]。近年来激光血卟啉诊治癌症的方法引起国内、外的广泛重视。许多学者认为其治癌机理属于 II 型光动力学反应^[1, 3], 即:



式中 Senc 是光敏物质, ${}^1\text{Senc}^*$, ${}^3\text{Senc}^*$ 分别代表其单重和三重激发态。 3O_2 是氧分子的基态, 1O_2 是氧分子的单重激发态。在光敏治癌中, Senc 是血卟啉, 1O_2 是癌细胞毒素。检测 II 型光动力学反应过程中的单态氧是确认该过程存在的依据。过去, 采用单态氧的猝灭剂和接收剂与其反应, 然后根据生成物的变化来检测单态氧^[1, 3]。1979 年 Khan 和 Krasnovshy 等人^[4~6] 先后用脉冲光源激发测量了单态氧在溶液中的 $a^1\Delta_g(v=0) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 跃迁发射光谱。1981 年 Paker 等人^[7] 测量了血卟啉在丙酮中产生单态氧的寿命。

我们在激光血卟啉治癌机理的研究过程中, 用激光光谱方法检测了血卟啉在 II 型光动力学反应中产生单态氧的发射光谱。其特点是: (1) 采用连续激光作为激发光源; (2) 测量了单态氧 1O_2 的 $a^1\Delta_g(v=1) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 跃迁发射光谱; (3) 定性地给出了单态氧量子产额相对值与激发光功率, 波长及血卟啉浓度的关系, 为选择激光血卟啉治癌优化条件提供了方法。

二、实验原理

单态氧 $^1O_2 \equiv O_2(^1\Delta_g)$ 是处于较低的单重激发态的氧分子。氧分子的势能曲线如图 1 所示^[9]。按照电子态的跃迁选择定则， $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ 属于偶极禁戒跃迁。由于分子间相互作用，使其对称性受到影响，此选择定则不严格成立，它只是电偶极禁阻的跃迁^[10]。图 2 示出了气体中氧分子的 $^1\Delta_g \leftarrow ^3\Sigma_g^-$ 磁偶极和电偶极跃迁的两个较低的振动带^[11]。对应于 $a^1\Delta_g(v=1) \leftarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 和 $a^1\Delta_g(v=0) \leftarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 跃迁的光波长是 $1.06741 \mu\text{m}$ 和 $1.2687 \mu\text{m}$ 。

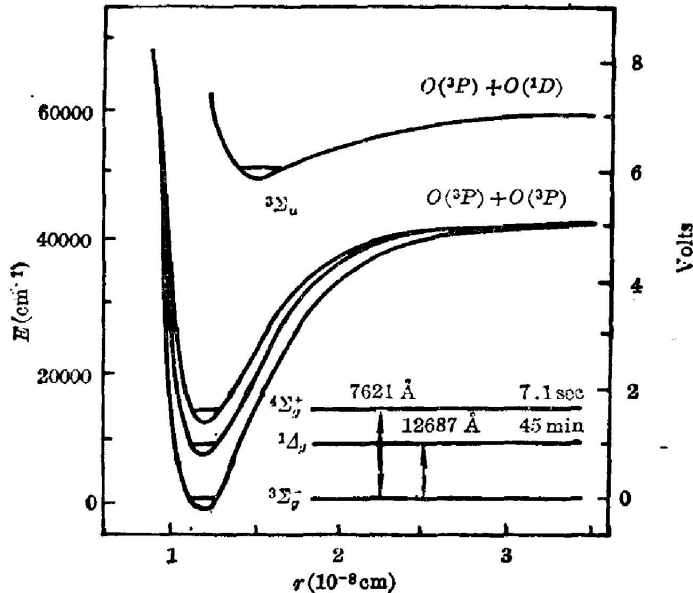


图 1 氧分子势能曲线

Fig. 1 Potential diagram of Oxygen molecules

在液体中，氧分子受溶剂分子和其它分子的作用，势能曲线和能级都将发生变化，使得跃迁谱线红移，线型展宽^[12,13]；从单态到基态跃迁的电偶极禁戒被部分解除^[11,18]，单态氧的寿命明显缩短^[5~8]。

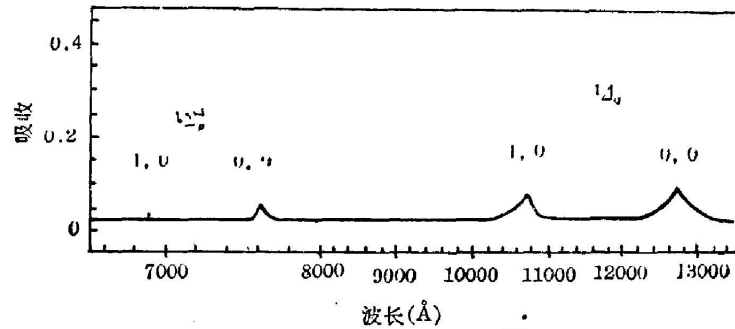


图 2 气体中 O_2 的几个振动带

Fig. 2 Some vibrational bands of gaseous oxygen molecules

在 II 型光动力学反应中，如果没有基底物存在，反应进行到 (3) 式后，一部分单态氧就以发光的形式跃迁回到基态。若能检测到单态氧发射的特征光谱，便可证实 II 型光动力学反应过程的存在。单态氧发射磷光的强弱反映了其量子产额的多少。

三、实验装置与实验结果

图 3 示出了测量单态氧磷光发射谱的实验装置及方框图。图中，1 是荧光池，采用不

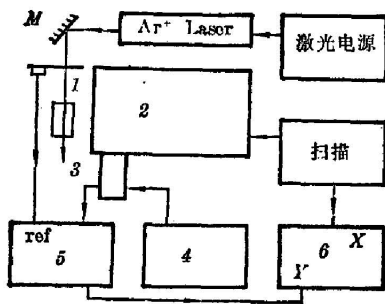


图 3 测量 1O_2 发射光谱的实验框图
Fig. 3 Block diagram of experimental apparatus for the measurement of emission spectra of 1O_2

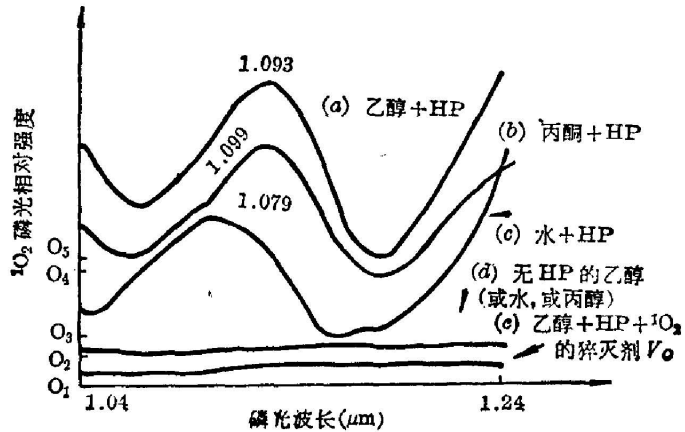


图 4 1O_2 磷光发射谱
Fig. 4 Emission spectrum of 1O_2

锈钢柱体作池腔, 石英玻璃和 CaF_2 晶体作窗口片; 2 是 HRS-2 型单色仪; 3 是 GDB-239 型光电倍增管(Ag-O-Cs 阴极材料); 4 是 XJ32-2 型高压电源; 5 是 391A 型锁相放大器; 6 是 LZ3-204 型函数记录仪。实验中用 Ar^+ 激光作激发光源, 激光功率 1.5 W, 血卟啉浓度 $50 \mu g/ml$, 单色仪在 $1.04 \sim 1.16 \mu m$ 波长范围内扫描。图 4 示出血卟啉在几种溶剂中产生单态氧的磷光发射 [$^1\Delta_g(v=1) \rightarrow ^3\Sigma_g^-(v=0)$] 谱, 这是记录仪直接记录的曲线, 没有修正检测系统与波长非线性关系造成的偏差。单色仪调节到磷光发射峰值附近的波长 ($1.09 \mu m$) 位置, 只改变激发光功率或只改变血卟啉浓度分别得到单态氧磷光相对强度与激发光功率和与血卟啉浓度的关系, 如图 5、图 6 所示。

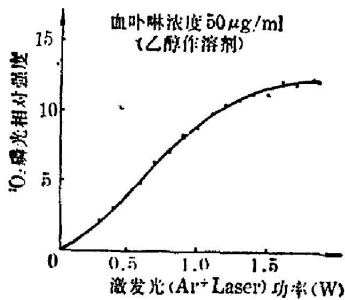


图 5 1O_2 磷光相对强度与激发光功率的关系
Fig. 5 Relative phosphorescence intensity of 1O_2 vs. exciting light power

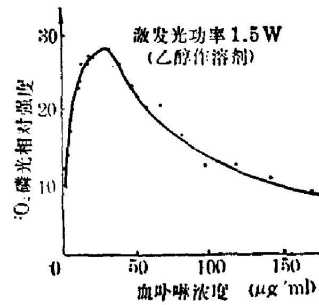


图 6 1O_2 磷光相对强度与 HP 浓度的关系
Fig. 6 Relative phosphorescence intensity of 1O_2 vs. concentration of HP

图 7 示出测量单态氧磷光相对强度与激发光波长关系的实验装置及方框图。图中 1~6 装置与图 1 中相同; 7 是 DSF-1 型单频锁相放大器; 8 是 JS-2 型凹面光栅单色仪; 9 是 HYJ-801 型染料激光器; 10 是调谐装置。用 Ar^+ 激光泵浦的连续波可调谐染料激光器作激发光源, 所用激光染料为 R6G, 调谐范围为 $5750 \sim 6400 \text{ \AA}$ 。用单频锁相放大器监视激光功率, 用凹面光栅单色仪测量激光波长。图 8 示出血卟啉在几种溶剂中产生单态氧的磷光相对强度与激发光波长的关系。血卟啉浓度为: 水中 $50 \mu g/ml$, 乙醇和丙酮

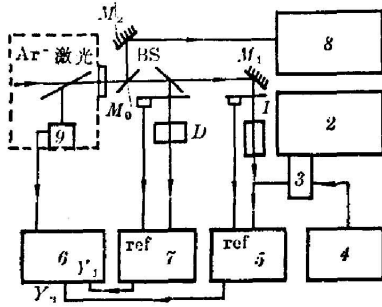


图 7 测量 $^1\text{O}_2$ 磷光相对强度与激发光波长关系的实验框图

Fig. 7 Block diagram of experimental setup for the measurement of the relative phosphorescence intensity of $^1\text{O}_2$ as a function of the pumping light wavelength

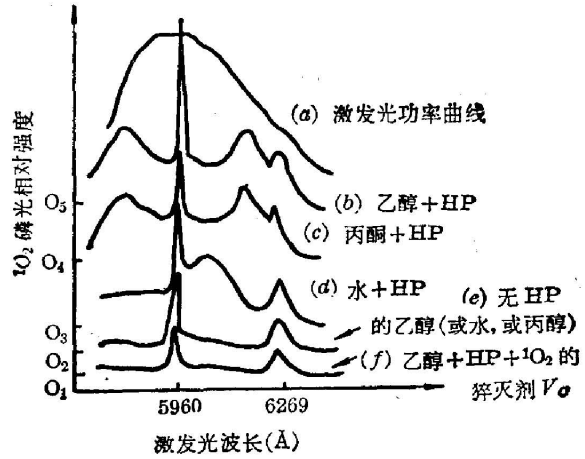


图 8 磷光相对强度与激发光波长的关系

Fig. 8 Relative phosphorescence intensity of $^1\text{O}_2$ vs. pumping light wavelength

中 $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

在血卟啉溶液中加入单态氧的猝灭剂维生素 $\text{C}^{[4]}$ 后, 待测信号明显下降, 如图 4 中的 e 曲线和图 8 中的 f 曲线。

实验中所用血卟啉均为德国的 Hämatoporphrin base(玻恩大学医学院制药研究所研制)。

四、讨 论

实验中检测到了血卟啉在几种溶剂中产生的单态氧, 说明血卟啉在光敏治病中存在 II 型光动力学反应。单位体积内单态氧磷光相对强度与激发光功率、波长及血卟啉浓度的关系可由下式表示:

$$I_{ph}(\lambda, \lambda') \propto N_1 \{1 - \exp[-\sigma_1(\lambda) I_0(\lambda)]\} \cdot K_{isc} \cdot \sigma_2(\lambda, \lambda', N_1, N_2) \cdot N_2 \cdot (1 - k_0) \cdot A(\lambda'), \quad (5)$$

式中 λ 是激发光波长, λ' 是发射光波长, $I_0(\lambda)$ 是激发光功率密度, $\sigma_1(\lambda)$ 是血卟啉分子吸收截面, K_{isc} 是血卟啉单重态与三重态能级交叉弛豫几率, $\sigma_2(\lambda, \lambda', N_1, N_2)$ 是三重态血卟啉与氧分子碰撞使其跃迁到单重态的作用截面, 反映了溶剂分子的影响, N_2 是氧分子密度, k_0 是单态氧被猝灭速度, 它包括各种物理和化学猝灭作用, $A(\lambda')$ 是单态氧发射波长为 λ' 的磷光的几率。如果激发光功率较小, 并且血卟啉浓度较低, 则单态氧的磷光相对强度与 $I_0(\lambda)$ 及 N_1 近似成正比, 即(5)式变为

$$I_{ph}(\lambda, \lambda') \propto N_1 \cdot \sigma_1(\lambda) \cdot I_0(\lambda) \cdot K_{isc} \cdot \sigma_2(\lambda, \lambda', N_2) \cdot N_2 \cdot (1 - k_0) \cdot A(\lambda'). \quad (6)$$

检测系统给出的光电信号是整个发光区域内的一部分磷光产生的, 即(5)式乘以单位体积内的集光效率 δ 和光电倍增管的响应效率 $\eta(\lambda')$ 后, 在发光区域内的积分:

$$S(\lambda, \lambda') \propto \int_V I_{ph}(\lambda, \lambda') \cdot \delta \cdot \eta(\lambda') dv. \quad (7)$$

(1) 在(5)式中改变 λ' , $I_{ph}(\lambda')$ 就是单态氧的磷光发射光谱, 见图 4。由于溶剂分子的作用, 血卟啉在不同溶剂中产生单态氧的量子产额也有差异, 如乙醇溶液中单态氧的量子产额比水中高。在溶液中单态氧的 $\alpha^1\Delta_g(v=1) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ 跃迁中心波长较之气体中单态氧相应的跃迁波长有一红移, 并且在不同的溶液中红移量也不同。

(2) 改变激发光功率 I_0 得到 I_{ph} 与 I_0 的关系曲线, 如图 5 所示。当 I_0 较小时, I_{ph} 随 I_0 的增加而增加。当 I_0 进一步增加时, I_{ph} 趋近稳定值, 这是因为血卟啉分子的吸收达到了饱和。另外, 受激的光敏剂与溶剂分子的二次相互作用产生了单态氧的物理猝灭剂。

(3) 改变血卟啉浓度 N_1 , 得 I_{ph} 与 N_1 关系曲线, 如图 6。当 N_1 很小时, 被血卟啉吸收的光也很少, 整个发光区域内的激发光功率近似相等, I_{ph} 随 N_1 的增加而增加; 当 N_1 增加到一定值以后, 血卟啉分子吸收增强, 使得激发光只在溶液表面附近与血卟啉分子作用, 而到溶液内部的激发光却很弱, 虽然氧分子密度分布不变, 但在整个发光区域内处于三重激发态的血卟啉减少, 其与氧分子的作用减弱, 导致整个发光区域内收集到的磷光强度下降, 并且血卟啉浓度增加, 其集聚状态也将发生变化, II 型光动力学反应减弱, I 型光动力学反应增强^[9]。当 $N_1=0$ 时, $I_{ph}=0$, 见图 4 中 d 曲线及图 8 中 e 曲线。

(4) 改变 λ 得到 $I_{ph}(\lambda)$ 曲线, 如图 8 所示。当 λ 变化时, I_{ph} 有极值出现, 溶剂不同, 极值位置也有差异。溶剂分子的吸收和发射影响单态氧的磷光发射谱, 例如图 8 中几种情况都具有的 5960 Å 和 6269 Å 两处较强的信号不是单态氧产生的, 估计可能是几种溶剂中的共同成份——水引起的。

(5) 在溶剂中加入猝灭剂后, 单态氧的猝灭速率 k_0 增加, I_{ph} 下降, 图 4 中 e 和图 8 中 f 曲线显示了维生素 C 针剂对单态氧的猝灭作用, 进一步证实了所测光电信号是单态氧产生的, 即血卟啉在光敏治癌中存在 II 型光动力学反应。

感谢波恩大学应用物理研究所 W. 乌尔班(W. Urban)教授的帮助。本工作得到丁建华、孙冰、伍伟恩等同志的帮助, 在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] J. Mean, E. O. Petterson *et al.*; *Brit. J. Cancer*, 1979, **39**, No. 4 (Apr), 398.
- [2] L. I. Grossweiner, A. S. Patel *et al.*; *Photochem. Photobiol.*, 1982, **36**, No. 2 (Aug), 159.
- [3] K. R. Weishaupt, C. J. Gomer *et al.*; *Cancer Res.*, 1976, **36**, No. 7 (Jul), 2326.
- [4] A. U. Khan; *Chem. Phys. Lett.*, 1980, **72**, No. 1 (May), 112.
- [5] A. A. Krasnovshy Jr.; *Chem. Phys. Lett.*, 1981, **81**, No. 3 (Aug), 443.
- [6] J. R. Hurst, J. D. McDonald *et al.*; *J. Amer. Chem. Soc.* 1982, **104**, No. 7 (Apr), 2065
- [7] J. G. Parker, W. D. Stanbro; *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, **104**, No. 7 (Apr), 2067.
- [8] Micheal A. J. Rodgers; *Photochem. Photobiol.*, 1983, **37**, No. 1 (Jan), 99.
- [9] G. Herzberg; *Molecular Spectra and Molecular Structure I. Spectra of Diatomic Molecules* (D. Van Nostrand Co. Princeton N. J. 1950), 446.
- [10] G. Herzberg; *ibid*, 275.
- [11] A. U. Khan, Micheal Kosha; *J. Amer. Chem. Soc.*, 1970, **92**, No. 11 (Jun), 3293.
- [12] Stephen G. Schulman Ph. D.; *Fluorescence and Phosphorescence Spectroscopy: Physicochemical Principles and Practice* (Pergamon Press, OXFORD, 1977), 45.
- [13] E. U. Condon; *Handbook of Physics*, (McGraw-Hill Book Company N. Y., 1967), 6.
- [14] Rakesh Dixit, Hasan Mukhtar *et al.*; *Photochem. Photobiol.*, 1983, **37**, No. 2 (Feb), 173.

**Emission spectra of $\alpha^1\Delta_g(v=1) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ transition
of singlet molecular oxygen 1O_2 produced by
Hematoporphrin (HP) in solutions**

ZHAO YONGJING ZHANG ZHILIN XU GENGWU AND LIN JUNXIU

(Department of Physics, Dalian Institute of Technology)

(Received 5 February 1985; revised 23 April 1985)

Abstract

Emission spectra of the $\alpha^1\Delta_g(v=1) \rightarrow X^3\Sigma_g^-(v=0)$ transition of the singlet molecular oxygen 1O_2 produced by hematoporphrin(HP) in solutions of water, acetone and ethylalcohol were measured with Ar^+ laser as the pumping light source. The relative phosphorescence intensity (relative value of the 1O_2 quantum yield) was found to depend on the pumping power, concentration of HP and pumping light wavelength. The quenching effect of ascorbic acid (injected as a quencher) on the singlet molecular oxygen was observed.