

文章编号: 0253-2239(2006)06-0928-5

PDT 光敏剂 HA 在不同液相体系下的 光谱特性研究

高博文¹ 禹继国¹ 高仲合¹ 陈 平² 汤国庆² 母国光²

(¹ 曲阜师范大学日照校区计算机科学学院, 日照 276826)
(² 南开大学现代光学研究所, 天津 300071)

摘要: 为了对候选光敏剂竹红菌甲素(HA)进行改性并保持其优异的敏化特性,对 HA 的光谱特性和激发态性质作了进一步的指认。系统研究了 HA 在不同液相体系下的吸收和荧光光谱,对指认 HA 的光谱和电子跃迁的机制提出了新的依据,结果表明,吸收带 I 产生于 $\pi\text{-}\pi^*$ 跃迁,吸收带 II 和 III 产生于 P- π 共轭所导致的 $L\text{-}a_\pi$ 跃迁的电子振动结构;荧光发射带 I 和 II 是产生于同一跃迁机制 $S_1(L, a_\pi)\text{-}S_0$ 的正常荧光的振动结构。

关键词: 光谱学; 吸收光谱; 荧光光谱; 光动力学; 竹红菌甲素; 激发态分子内质子转移

中图分类号: O657 文献标识码: A

Study on the Spectrum Property of the Photodynamic Therapy Photosensitizer Hypocrellin A in Different Acidity and Basicity

Gao Bowen¹ Yu Jiguo¹ Gao Zhonghe¹ Chen Ping² Tang Guoqing² Mu Guoguang²

(¹ Department of Computer Science, Qufu Normal University, Rizhao 276826)
(² Institute of Modern Optics, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract: In order to modify hypocrellin A (HA) while maintaining its excellent sensitivity to singlet oxygen, work has been done to recognise its spectroscopy and electronic excited state properties. New evidences are obtained to decide its spectroscopy and electronic transition mechanism, from systematic study of the absorption and fluorescence spectrum of HA in different acidity and basicity. Results indicate that the absorption band I results from $\pi\text{-}\pi^*$ transition; the long wavelength absorption band II and III results from $L\text{-}a_\pi$ transition for the reason of P- π conjugation, and the fluorescence emission band I and II result from the transition of $S_1(L, a_\pi)\text{-}S_0$ with the similar vibronic features to absorption band.

Key words: spectroscopy; absorption spectrum; fluorescence spectrum; photodynamic therapy (PDT); hypocrellin A (HA); excited state intramolecule proton transfer (ESIPT)

1 引 言

竹红菌素(Hypocrellin)是从特产于我国云南的箭竹真菌——竹红菌中提取出的光敏色素,其主要组分包括竹红菌甲素(Hypocrellin A, HA)和乙素(Hypocrellin B, HB)。竹红菌甲素的分子具有很强的分子内氢键和大 Π 共轭体系,属于茚醌的衍生物。作为一种新型的光敏有机功能分子^[1~4],自 20 世纪 90 年代以来,对其研究引起了国内外多个研究小组的广泛关注,对竹红菌甲素的光物理、光化

学、光生物及光动力作用的性质做了大量有意义的研究^[1,2,5~8]。综观这些研究,人们对 HA 的光谱产生机制提出了多种不同的观点,至今尚无定论。对于有机分子来说,按照 Kasha 电子跃迁分类法,主要有 $\Pi\text{-}\Pi^*$ 跃迁, $n\text{-}\Pi^*$ 跃迁和 $L\text{-}a_\Pi$ 跃迁。 $L\text{-}a_\Pi$ 跃迁是指跃迁电子来自于分子中杂原子的这样一些孤对轨道,这些孤对轨道不是严格意义上的非成键 n 轨道,而是能发生 P- Π 共轭的 n 轨道。因此不存在通常的电子 $n\text{-}\Pi^*$ 跃迁的禁阻性。考虑到 HA 分子是

* 天津市科学技术委员会光电子联合研究中心(003101511)资助课题。

作者简介: 高博文(1974~),男,山东巨野人,曲阜师范大学计算机学院讲师,硕士,主要从事信息光电材料与光网络通信技术的研究。E-mail: gbwhappy@eyou.com

收稿日期: 2005-06-10; 收到修改稿日期: 2005-09-05

具有很强的分子内氢键和大 Π 共轭体系的分子,而酚羟基中的氧原子具有 SP^2 杂化成键轨道和未参与杂化的孤对 P_z 轨道,因此 HA 分子在电子结构上存在 P_z - Π 共轭作用,为了考核这类分子的跃迁特性,本文主要研究了 HA 在不同酸碱体系下的吸收光谱和荧光光谱,通过对其在中性体系下的光谱作比较和分析,对 HA 光谱产生机制作了新的指认,并提出了 HA 分子的能级模型。

2 光谱测量的实验装置

吸收光谱是用国产商用 UV-Vis(型号为 WFZ-25A)紫外可见分光光度计测得,荧光光谱是用美国 ARC 公司生产的 Spectrosense 光谱仪(CCD 型)测得。连续光源是日本产氙灯。实验装置图如图 1 所示。

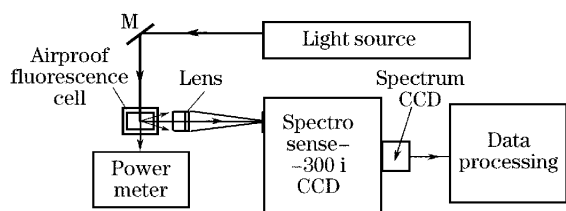


图 1 荧光光谱测量系统

Fig. 1 Measurement system for fluorescence spectrum

3 HA 在不同碱性体系下的吸收光谱和荧光光谱

竹红菌甲素是由云南微生物研究所提供的重结晶试剂,使用前没有经过进一步提纯等处理,经光谱验证无杂质干扰。所用溶剂均为无水分析纯试剂,在所研究的波长范围内无杂质干扰。

3.1 HA 在不同碱性体系下的吸收光谱

HA 在中性液相体系中的吸收光谱表明,在不同的溶剂中,HA 分子在可见区存在三个吸收带(I, II, III),如图 2 所示为 HA 在乙醇中的吸收光谱^[9]。

三个吸收带(I, II, III)分别对应的中心波长为 460 nm, 540 nm 和 580 nm;吸收带 I 的强度明显大于吸收带 II 和 III, HA 乙醇溶液中的吸收光谱对应的吸收带 II 和 III 相对于吸收带 I 的强度之比分别为 0.417 和 0.445。

由于在酸碱环境下,溶质的取代基会受到破坏,因此吸收光谱要发生变化。HA 分子是含有分子内氢键和大 Π 共轭体系的分子,为了进一步揭示 HA 分子长波吸收带 II 和 III 的产生机制,测得 HA 在不

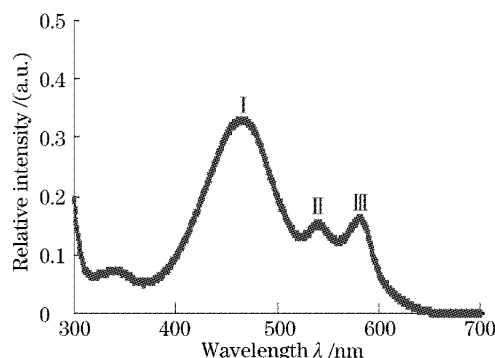


图 2 HA 在乙醇中的吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectrum of Hydrocrellin A in ethanol

同碱性条件下的吸收光谱,如图 3 所示,其中碱性体系是把不同 NaOH 的体积浓度比(1.50%, 1.00%, 0.50%, 等)按定量(20 μ L)加入到 HA 的乙醇溶液中得到的。

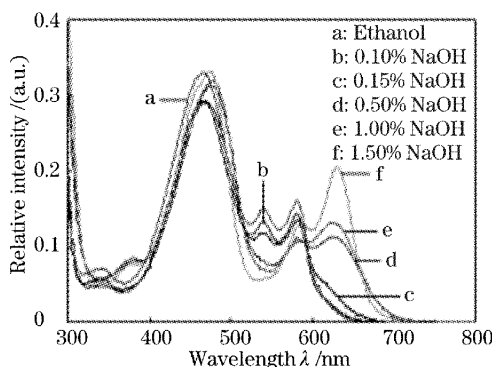


图 3 HA 在不同碱性体系下的吸收光谱

Fig. 3 Absorption spectra of HA in different basicity

从图 3 可以看出,随着碱性的增强,吸收带 I 有微弱的红移,并出现分峰现象,而吸收带 II 和 III 的强度则越来越弱,同时在长波方向出现一个新的吸收带,它的强度随碱性的增强而增大;当碱性增大到一定程度时,吸收带 II 和 III 完全消失。

从吸收光谱上的变化,可以看到,HA 的吸收带 II 和 III 的出现与 HA 分子 $-OH$ 基的存在及其与邻近的醌羰基形成的分子内氢键有密切关系。 $-OH$ 基中的氧原子轨道为 SP^2 杂化,其氢原子与醌羰基通过分子内氢键形成稳定的六元环,使 $-OH$ 基中氧原子的一个未参与杂化的孤对电子 P 轨道与大 Π 体系可产生强的共轭作用(P - Π 共轭)。在一般情况下, n - Π^* 跃迁是很弱的,这主要是因为孤对电子在空间不能同 Π 体系重叠,即跃迁是空间重叠禁阻的。但是,如果分子有未参与杂化的孤对电子跟 Π 体系产生共轭譬如 P - Π 共轭作用,通常情况下 n - Π^*

跃迁的禁阻性就会被破坏,产生较强的 $L-a_{\pi}$ 跃迁。这就是在中性体系下观测到的吸收带 II 和 III 产生的机制。但是,当处于强碱性条件下时,HA 分子电离成为 HA^{-} 负离子,分子内氢键不复存在,这样一方面使得光谱出现新的离子带 ($\lambda_{max} = 650 \text{ nm}$); 另一方面由于 $-O^{-}$ 负离子的 SP^2 杂化轨道与醌羰基静电排斥作用和羟基氧与花环连接键的扭动导致 P- π 共轭作用减弱或消失。吸收带 II 和 III 强度逐渐减弱或消失。因此,当碱性进一步增强, $L-a_{\pi}$ 跃迁消失; 在碱性增强过程中,离子带吸收出现了两个等吸收点(见图 3),这表明在 HA 分子中构成分子内氢键的两个 $-OH$ 基逐步由一次电离变成二次电离,在完全变成二次离子前,存在两种离子物种。吸收带 I 开始出现分峰; 吸收带 II 和 III 的几乎完全消失。由于碱性增强,溶剂极性随之增大,从而导致原位于 460 nm 处的吸收带 I 进一步红移。由此可知,吸收带 II 和 III 产生于酚羟基氧与花环连接键的电子振动结构。另外,从红外光谱的振动分析可知,吸收带 II 和 III 两峰能量间隔估算为 1300 cm^{-1} ,也落在 C-OH 的伸缩振动和 C-OH 面内弯曲振动频率范围内。

3.2 HA 在不同碱性体系下的荧光光谱

如前所述,人们对 HA 的荧光光谱产生机制提出了多种不同的观点,至今尚无定论。为了进一步揭示 HA 的电子激发态行为,我们测得了 HA 在不同碱性体系下的荧光光谱,如图 4 所示。通过对荧光光谱的分析,对 HA 的荧光产生机制进行了进一步的指认,并提出了荧光能级结构。

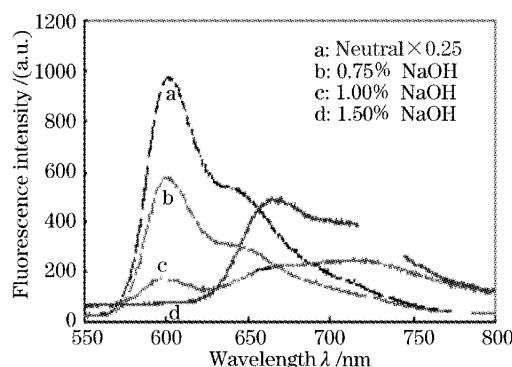


图 4 HA 在不同碱性体系下的荧光光谱

Fig. 4 Fluorescence spectra of HA in different basicity

荧光光谱是用美国 ARC 公司生产的 Spectrosense 光谱仪 (CCD 型) 测得,连续光源是日本产氙灯。由于不同的激发波长对 HA 的荧光光谱的形状没有明显的改变,这与有机分子的荧光光谱不随吸收带范围内的激发波长而改变的特性相符

合^[1,2]。本实验采用的激发波长为 460 nm 。由光谱可以看出:随着碱性的增强,荧光发射带 I 和 II 的强度越来越弱,同时在长波方向出现一个新的荧光带,它的强度随碱性的增强而增大;当碱性增大到一定程度时,荧光发射带 I 和 II 完全消失。

从光谱的变化可知:HA 的荧光发射带 I 和 II 的出现与 HA 分子 $-OH$ 基的存在及其与邻近的醌羰基形成的分子内氢键有密切关系。由于 HA 分子 $-OH$ 基中未参与杂化的孤对电子跟 π 体系产生 P- π 共轭作用,通常情况下 $n-\pi^*$ 跃迁的禁阻性被破坏,产生较强的 $L-a_{\pi}$ 跃迁,形成 HA 分子的第一激发态 $S_1(L, a_{\pi})$ 。荧光发射带 I 和 II 是产生于同一激发态 $S_1(L, a_{\pi})$ 至基态 S_0 的不同振动跃迁所致,这就是我们在中性体系下所观测到的荧光光谱带 I 和 II。随着碱性的增强,HA 分子电离成为 HA^{-} 负离子,分子内氢键不复存在, $-O^{-}$ 负离子的 SP^2 杂化轨道与醌羰基静电排斥作用和羟基氧与花环的扭动导致 P- π 共轭作用减弱或消失, $L-a_{\pi}$ 跃迁随之减弱,激发态 $S_1(L, a_{\pi})$ 至基态 S_0 跃迁减弱,使得荧光发射带 I 和 II 的强度越来越弱,同时在长波方向出现一个新的离子荧光带。当碱性进一步增强,HA 分子中构成分子内氢键的两个 $-OH$ 基全部电离,形成二次离子, $L-a_{\pi}$ 跃迁完全消失,荧光发射带 I 和 II 随之消失,在长波方向出现的荧光带可归结为一次电离和二次电离形成的离子体荧光,其强度随碱性的增强而增大。

另外,为了进一步验证上述论证,从图 5 所示的 HA 在碱性水溶液体系 ($pH = 12$) 下的吸收和荧光光谱中可以看到 HA 吸收和荧光光谱存在着很好的镜像对称性,这进一步说明了荧光发射带 I 和 II 是产生于同一激发态 $S_1(L, a_{\pi})$ 至基态 S_0 的不同振动结构跃迁所致。

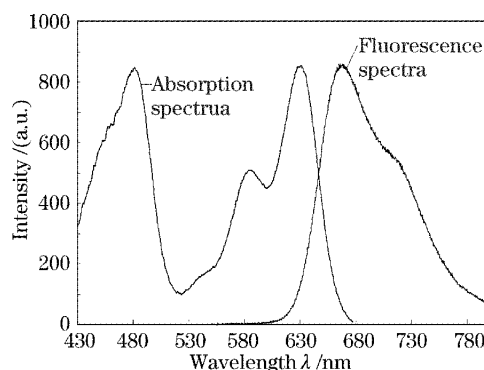


图 5 HA 在碱性体系下的吸收和荧光光谱

Fig. 5 Absorption and fluorescence spectra of HA in basicity

4 HA 在不同酸性体系下的吸收光谱和荧光光谱

4.1 HA 在不同酸性体系下的吸收光谱

测得 HA 在不同酸性条件下的吸收光谱,如图 6 所示,其中酸性体系是由高氯酸与乙腈的不同体积比(1:50,1:150,1:300,1:500 等)构成的。

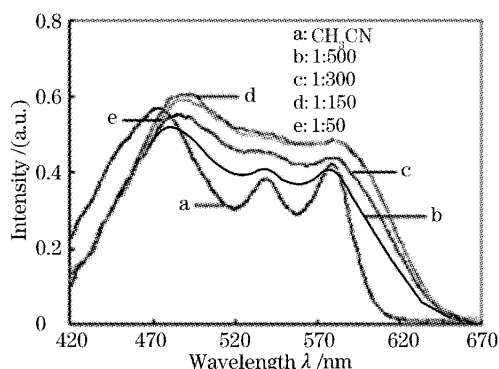


图 6 HA 在不同酸性体系下的吸收光谱

Fig. 6 Absorption spectra of HA in different acidity

从图 6 可以看出,随着酸性的增强,吸收带 I 有较大的红移,没有出现分峰现象;而吸收带 II 和 III 相对于吸收带 I 的强度有所增加,并逐渐趋于弥散,当酸性增大到一定程度时,吸收带 II 和 III 变得不可分辨,并在长波方向出现了新的吸收宽带。在中性体系下观测到的吸收带 II 和 III 产生的机制如 3.1 节所述。但是,当处于强酸性条件下时, H^+ 的大量存在,必然和 HA 分子羰基上的氧原子结合,称为 HA 分子质子化,成为 HA^+ 正离子,原来的分子内氢键将由于 H^+ 的竞争而变得松弛。随着酸性浓度增强,HA 分子质子化倾向加剧,从而最后达到完全质子化,此时,分子内氢键消失。在这种情况下分子内电荷转移跃迁可能发生。电荷转移跃迁的特征是在 $\Pi-\Pi^*$ 跃迁长波侧产生基本无结构的吸收峰。因为羰基具有激发态电荷受体的特性,HA 分子发生质子化后,减少了羰基上氧附近的电荷密度,增强了激发态的受体能力和稳定化(能级下降)程度。此外,质子化使得对酚羟基 H 的排斥作用增强和位阻效应,导致酚羟基转过一定角度;同时考虑到酚羟基氧原来的 L 孤对轨道电子也要质子化,因此有可能形成 L 孤对轨道电子和羰基上氧的孤对轨道电子共同结合一个 H^+ ,形成一个 HA 质子化的正离子,生成一个位于 (L, a_{Π}) 态下面的电荷转移态 (CT^*)。该模型可以很好地解释上述现象,随着酸性浓度增强, $L-a_{\Pi}$ 跃迁随之减弱,同时产生一个新的电荷转移跃迁带,位于长波侧叠加在原来的 $L-a_{\Pi}$

跃迁带上,体现为无结构的弥散吸收带。

4.2 HA 在不同酸性体系下的荧光光谱

如前所述,HA 的荧光发射带 I 和 II 的出现与 HA 分子 $-OH$ 基的存在及其与邻近的羰基形成的分子内氢键密切相关。本文为了进一步揭示其产生机制,研究了 HA 在不同酸性体系下的荧光光谱,如图 7 所示,由光谱的变化可以看出:随着酸性的增强,荧光发射带 I 和 II 的强度越来越弱,同时在长波方向出现一个新的荧光带;当酸性增大到一定程度时,荧光发射带 I 和 II 完全消失。

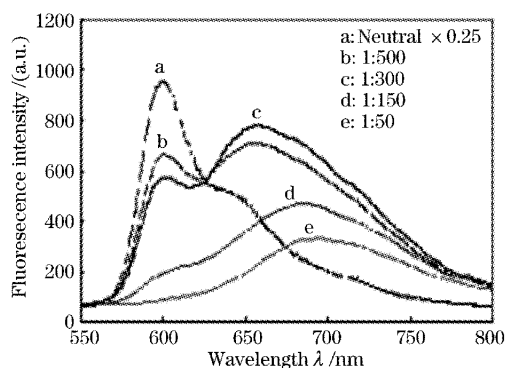


图 7 HA 在不同酸性体系下的荧光光谱

Fig. 7 Fluorescence spectra of HA in different acidity

从前面的分析已知,HA 荧光发射带 I 和 II 是产生于同一激发态 $S_1(L, a_{\Pi})$ 至基态 S_0 的不同振动跃迁所致。其产生机制与 HA 分子 $-OH$ 基和邻近的羰基形成的分子内氢键密切相关。在酸性体系下,大量 H^+ 的存在必然与 $-OH$ 基中的 H 原子竞争与羰基中氧结合的机会,竞争的结果是 $-OH$ 基和邻近的羰基形成的分子内氢键产生松动,直至进一步断裂。

随着酸性的增强,HA 分子质子化成为 $HA-H^+$ 正离子,分子内氢键不复存在, $-OH$ 基的与质子化的羰基静电排斥作用使羟基与苯环间产生扭动导致 P- Π 共轭作用减弱, $L-a_{\Pi}$ 跃迁随之减弱,激发态 $S_1(L, a_{\Pi})$ 至基态 S_0 跃迁减弱,使得荧光发射带 I 和 II 的强度随着酸性的增强越来越弱,同时在长波方向出现一个新的离子荧光带。当酸性进一步增强,HA 分子的分子内氢键的两个全部断裂,形成双质子化 HA 二次正离子, $L-a_{\Pi}$ 跃迁完全消失,荧光发射带 I 和 II 随之消失,由于羰基的质子化,其激发态受体特性大大增强, $S_1(L, a_{\Pi})$ 态不复存在,而代之以能量较低的分子内电荷转移态 (CT^*)。在长波方向出现的荧光带可归结为二次正离子形成的电荷转移荧光。荧光带移向长波侧是

因为(CT*)态的电荷分布聚集于醌羰基氧电荷受体区域,激发态分子的偶极矩增大,因此激发态溶剂笼效应使荧光带更移向长波。至此,我们较系统地研究了 HA 在不同酸碱体系下的光谱特性,对 HA 分子的能级结构有了初步的了解,在此基础上图 8 给出了 HA 分子的能级参考模型^[6,9,10]。

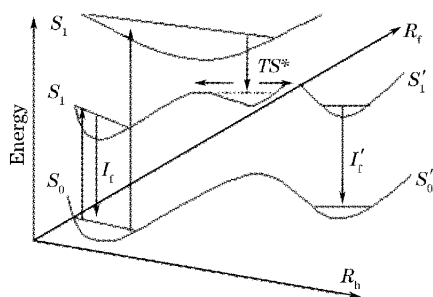


图 8 HA 分子内质子转移模型

Fig. 8 Model of intramolecule proton transfer in excited state in HA

5 结 论

本文通过对 HA 在不同酸碱体系下的吸收光谱和荧光光谱的研究,对 HA 光谱的产生机制作了进一步的指认,并提出了 HA 的能级结构,现归纳如下:

1) HA 在可见区有三个比较强的吸收带(中性溶剂中分别对应于 460 nm, 540 nm, 580 nm)吸收带 I 是由大 Π 体系的 $\Pi-\Pi^*$ 跃迁引起的;吸收带 II 和 III 是由 P- Π 共轭导致的具有电子振动结构的 L- a_{Π} 跃迁引起的。

2) HA 在可见区有两个荧光发射带(中性溶剂中分别对应于 600 nm, 650 nm)荧光发射带 I 和 II 是产生于同一激发态 S_1 (L, a_{Π}) 至基态 S_0 的不同振动跃迁所致。

3) HA 在强碱体系下,吸收光谱在长波方向出现的离子峰可归结为一次电离和二次电离形成了的离子体的吸收;在强酸体系下,吸收光谱产生一个新的电荷转移跃迁带,位于长波侧叠加在原来的 L- a_{Π} 跃迁带上,体现为无结构的弥散吸收带。在强碱体系下,荧光光谱在长波方向出现的荧光带可归结为一次电离和二次电离形成了的 HA^+ 正离子荧光,在强酸体系下荧光光谱在长波方向出现的荧光带可归结为 $HA-H^+$ 的电荷转移荧光,荧光移向长波侧

是因为(CT*)态的电荷分布聚集于醌羰基氧电荷受体区域,激发态分子的偶极矩增大,因此激发态溶剂笼效应使荧光带更移向长波。

参 考 文 献

- Jiang Lijin. Studies on structure and properties and photochemical reaction and mechanism of hypocrellin (I); Structure and properties[J]. *Chinese Science Bulletin*, 1990, **35** (21): 1608~1616 (in Chinese)
蒋丽金. 竹红菌素的结构、性质、光化学反应及反应机制 (I); 竹红菌素的结构和性质[J]. *科学通报*, 1990, **35**(21): 1608~1616
- Jiang Lijin. Studies on structure and properties and photochemical reaction and mechanism of hypocrellin (II); Photochemical reaction and mechanism [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1990, **35**(22): 1681~1690 (in Chinese)
蒋丽金. 竹红菌素的结构、性质、光化学反应及反应机制 (II); 竹红菌素的反应[J]. *科学通报*, 1990, **35**(22): 1681~1690
- Gao Bowen, Zhao Jingxiu, Gao Zhonghe *et al.*. Studies on sensitized effect properties and quantum yield of singlet oxygen photosensitized by PDT photosensitizer hypocrellin A [J]. *Optics and Optoelectronic Technology*, 2004, **2**(6): 34~37 (in Chinese)
高博文, 赵景秀, 高仲合 等. 关于 PDT 光敏剂敏化效应光谱及其量子产率的研究[J]. *光学与光电技术*, 2004, **2**(6): 34~37
- Gao Bowen, Lei Yuxia, Cao Baoxiang *et al.*. The spectroscopic technology for measuring singlet oxygen fluorescence and quantum yield produced by a new-type photosensitizer Hypocrellin A[J]. *Optoelectronic Technology and Information*, 2005, **18**(2): 33~37 (in Chinese)
高博文, 雷玉霞, 曹宝香 等. 一种新型光敏剂 HA 激发态敏化单态氧的光谱测量[J]. *光电子技术与信息*, 2005, **18**(2): 33~37
- Jiang Lijin, He Yuying. Studies on optic-physics and photochemistry and photobiology of nature photosensitizer Hypocrellin[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2000, **45**(19): 2019~2033 (in Chinese)
蒋丽金, 何玉英. 竹红菌素类光敏剂的光物理、光化学和光生物 [J]. *科学通报*, 2000, **45**(19): 2019~2033
- Lei Z. Zhang, Guo-Qing Tang, Bo-Wen Gao *et al.*. Spectroscopic studies on the excited-state properties of the light-induced antiviral drug hypocrellin A loaded in the mesoporous solid[J]. *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **396**(6): 102~109
- Zhang J, Cao E H, Li J F *et al.*. Photodynamic effects of hypocrellin A on three human malignant cells by inducing apoptic cell death[J]. *Photonchem Photobiol B: Biol.*, 1998, **43**(10): 106~111
- Fehr M J, Carpenter S L, Wannemuehler Y *et al.*. Roles of oxygen and photoinduced acidification in the light-dependent antiviral activity of hypocrellin A[J]. *Biochem.*, 1995, **34**: 15845~15848
- Gao Bowen, Chen Ping, Tang Guoqing. Studies on the absorption and fluorescence spectrum of hypocrellin A dispersed in sieves (MCM-41) [J]. *Laser and Optoelectronics Progress*, 2004, **41**(12): 27~30 (in Chinese)
高博文, 陈平, 汤国庆. HA 在纳米分子筛 MCM-41 中的光谱特性研究[J]. *激光与光电子学进展*, 2004, **41**(12): 27~30
- Guoqing Tang, Chen Ping, Bowen Gao *et al.*. Excited state properties of nature photosensitizer Hypocrellin A [R]. *International Photodynamic Therapy Conference in HongKong*, 2001. 75