

Н.Е. Ковальская, Н.А. Кузнецова\*, И.В. Соколова

## Спектральное определение квантовых выходов фотодеструкции псораленов в водных и спиртовых средах

Сибирский физико-технический институт им. академика В.Д. Кузнецова  
при Томском государственном университете

\* Государственный научный центр Российской Федерации «НИОПИК», г. Долгопрудный, Московская обл.

Поступила в редакцию 17.12.2003 г.

Оценены квантовые выходы фотопревращений псораленов различной структуры в воде и спирте. Установлено, что фотодеградация псоралена и ангелицина в воде при облучении светом с длиной волны 313 нм протекает с квантовыми выходами  $0,01 \pm 0,002$  и  $0,025 \pm 0,005$  соответственно. При переходе к спирту фотостабильность псоралена и ангелицина резко увеличивается. Уже в водном растворе 5- и 8-метоксипсорален достаточно устойчивы к действию ультрафиолетового облучения. Проведено исследование состояния псораленов в водном растворе, и предложено основное направление фотодеструкции этих веществ.

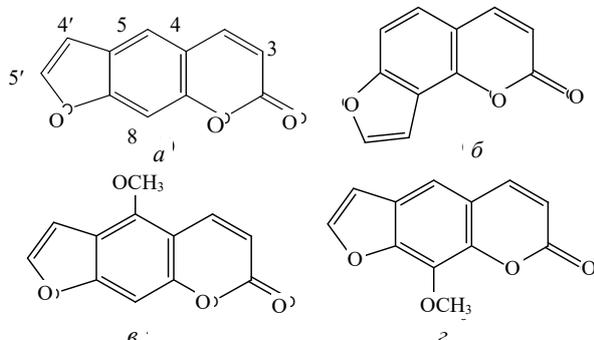
### Введение

Псоралены (или фурукумарины) – это группа соединений, обладающих сенсibiliзирующими свойствами, что позволяет использовать их в фотохимиотерапии различных кожных заболеваний [1].

Большинство работ в области фотохимии псораленов посвящены исследованиям их фотореакций с биологическими субстратами [2, 3], а также идентификации фотопродуктов, образующихся при облучении в водных и спиртовых средах [4–7]. Анализ литературы показывает, что количественные данные об эффективности фотодеструкции псораленов в растворах отсутствуют. Мы исследовали некоторые аспекты механизма фотолиза псораленов и определили квантовые выходы их фотодеградации в воде, универсальном биологическом растворителе, а также в спирте.

### 1. Объекты и экспериментальные методы исследования

Объектами исследования являлись псорален, ангелицин, 5- и 8-метоксизамещенные псоралена. Структурные формулы соединений приведены ниже: псорален (а), ангелицин (б), 5-метоксипсорален (в), 8-метоксипсорален (г).



Гексадецилтриметиламмоний бромид (Sigma) и додецилсульфат натрия (Roanal, Hungary) использовались без

дополнительной очистки. Растворителями служили дистиллированная вода и этанол, содержащий 5% воды.

#### 1.1. Облучение

Облучение растворов псораленов (концентрация  $(2-7) \times 10^{-5}$  М) проводили в кварцевых кюветках с оптическим слоем толщиной 1 см. Источником света служила ртутно-кварцевая лампа высокого давления СВД-120А. Выделение линии ртутного спектра с длиной волны 313 нм производили с помощью стеклянных светофильтров ЖС-3 и УФС-2. Световой поток  $[0,38 \cdot 10^{-16}$  квант/(с · см<sup>2</sup>)] определяли по методу [8] с использованием 0,006-молярного раствора ферриоксалата калия.

Фотолизы в воде осуществляли при постоянной концентрации кислорода, непрерывно барботируя воздух. Квантовые выходы деструкции псораленов в этаноле оценены в диффузионном режиме из-за летучести растворителя. Обескислороживание растворов осуществляли барботированием гелия в течение 20 мин до облучения и во время него.

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре НР-8453.

#### 1.2. Определение квантовых выходов фотодеструкции

Расходование псораленов контролировали спектрофотометрически по снижению поглощения в максимуме длинноволновых полос. Значения максимумов поглощения и соответствующие им молярные коэффициенты экстинкции для исходных веществ ( $\epsilon$ ) и продуктов фотолиза ( $\epsilon_{эф}$ ), использованные при расчетах, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Спектральные характеристики псораленов в воде

Соединение	$\lambda_{\max}$ , нм	$\epsilon$ , см <sup>-1</sup> · моль <sup>-1</sup> · л	$\epsilon_{эф}$ , см <sup>-1</sup> · моль <sup>-1</sup> · л
Псорален	295	13900	6700
Ангелицин	301	8800	4200
8-Метоксипсорален	303	11200	4800
5-Метоксипсорален	315	9200	5200

Число поглощенных квантов монохроматического света определяли по измеренной квантовой интенсивности светового потока, падающего на кювету с раствором, и известному поглощению раствора в данной спектральной области.

Квантовые выходы фотодеструкции рассчитывались по формуле

$$\Phi = \frac{\Delta D N_A V}{I(\epsilon - \epsilon_{\text{эф}})(1 - T)IS t},$$

где  $\Delta D$  – изменение оптической плотности в максимуме длинноволновой полосы поглощения ( $\lambda_{\text{max}}$ ) при толщине слоя  $l$ , см, за время облучения  $t$ , с;  $N_A$  – число Авогадро;  $V$  – объем облучаемого раствора, л;  $\epsilon$  – молярный коэффициент экстинкции исходного псоралена в максимуме его длинноволновой полосы поглощения ( $\lambda_{\text{max}}$ );  $\epsilon_{\text{эф}}$  – эффективный молярный коэффициент поглощения фотопродуктов в максимуме длинноволновой полосы поглощения исходного псоралена ( $\lambda_{\text{max}}$ );  $T$  – пропускание облучаемого раствора на длине волны возбуждающего света;  $I$  – световой поток, квант/(с · см<sup>2</sup>);  $S$  – площадь облучения, см<sup>2</sup>.

Погрешность определения квантовых выходов составляла ~ 15%.

## 2. Обсуждение результатов

Обнаружено, что все исследуемые соединения хорошо растворимы в спиртовых средах, но в воде они, особенно метоксизамещенные, растворяются недостаточно. В связи с этим мы провели исследование состояния псораленов в водном растворе. На примере ангелицина и 8-метоксипсоралена было установлено, что введение в водный раствор этих соединений детергентов (гексадецилтриметиламмоний бромид либо додецилсульфат натрия) не приводит к изменениям электронных спектров поглощения. Этот факт, а также соблюдение закона Ламберта–Бугера (соблюдение закона Ламберта–Бугера в диапазоне концентраций  $5 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$  М демонстрируют данные рис. 1) свидетельствует о том, что, несмотря на низкую растворимость в воде, псоралены в водном растворе находятся в мономерном состоянии.

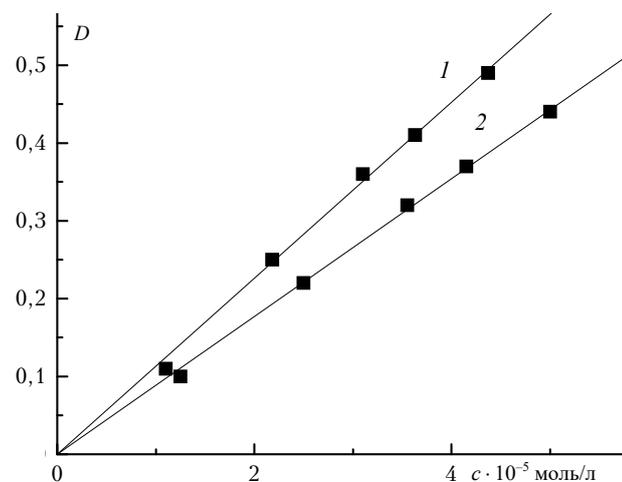


Рис. 1. Зависимость оптической плотности  $D$  от концентрации вещества  $c$  в водном растворе: 8-метоксипсоралена (1) и ангелицина (2)

Было обнаружено, что при облучении растворов исследуемых соединений как полным ультрафиолетовым светом, так и фильтрованным ( $\lambda_{\text{в}} = 313$  нм) происходят спектральные изменения, свидетельствующие о расходовании изучаемых веществ. На рис. 2 в качестве примера приведены спектральные изменения, наблюдаемые при облучении ангелицина в воде в присутствии кислорода воздуха. Для обсуждения фотохимических превращений, ответственных за эти спектральные изменения, используем имеющиеся литературные данные.

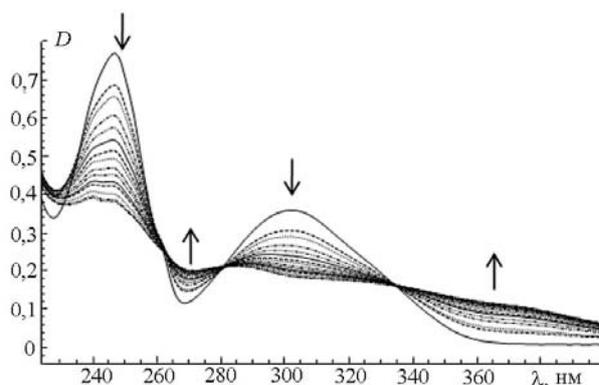


Рис. 2. Спектры поглощения ангелицина ( $c = 4 \cdot 10^{-5}$  моль/л) в водном растворе. Каждая кривая соответствует фотолизу через один-два минута при облучении полным ультрафиолетом ртутной лампы в течение 15 мин

Известно [9], что псоралены под действием света вступают в реакции фотоциклоприсоединения как с другими молекулами, так и друг с другом. В последнем случае образуются фотодимеры. Однако, учитывая низкую концентрацию псораленов и отсутствие агрегации в растворе, можно заключить, что эффективность бимолекулярных процессов, приводящих к образованию димеров, в условиях проведения эксперимента невелика.

На основании литературных данных можно также предположить окисление 4'5' двойной связи фуранового цикла и образование гидроксильного альдегида [10]. Однако было установлено отсутствие влияния на ход фотолиза обескислороживания раствора током гелия, что противоречит фотоокислению.

По нашему мнению, наиболее вероятным механизмом фотодеструкции является фотосольволиз, предложенный в работе [10] для псоралена в водных и спиртовых средах.

Данные показывают, что оптическая плотность в максимуме длинноволновой полосы поглощения псораленов не снижается до нуля даже при достаточно длительном облучении, а достигает некоторого постоянного уровня (например, для псоралена  $D \sim 0,25$ ). Этот уровень оптической плотности был принят нами за поглощение продуктов фотолиза и использован для расчета их эффективной экстинкции  $\epsilon_{\text{эф}}$  (концентрация фотопродуктов принята равной концентрации исходного псоралена). Величина  $\epsilon_{\text{эф}}$  была использована для определения изменения концентрации исходного субстрата по формуле

$$\Delta c = \Delta D / [I(\epsilon - \epsilon_{\text{эф}})].$$

В качестве примера на рис. 3 приведено изменение концентрации ангелицина в воде при фотооблучении. Линеаризация этой зависимости в координатах  $\ln(c_0/c_t)$  от  $t_{\text{обл}}$  (рис. 4) свидетельствует о первом порядке реакции.

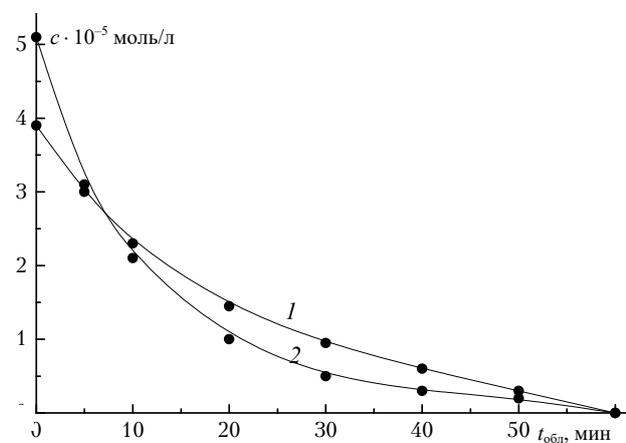


Рис. 3. Зависимость концентрации  $c$  от времени облучения  $t_{\text{обл}}$  для псоралена (1) и ангелицина (2) в водном растворе при барботировании кислородом воздуха.  $\lambda_{\text{в}} = 313$  нм

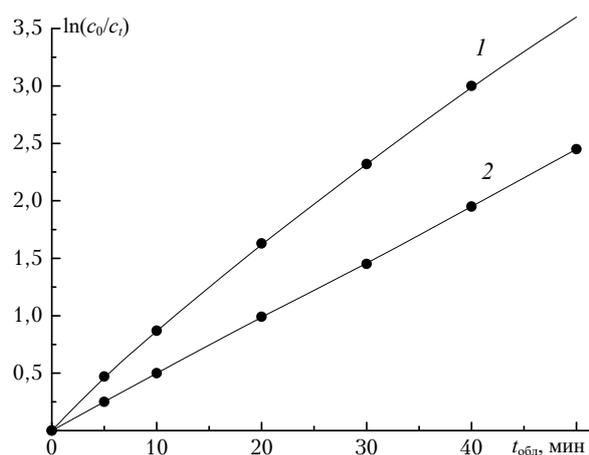


Рис. 4. Зависимость  $\ln(c_0/c_t)$  от времени облучения  $t_{\text{обл}}$  для псоралена (1) и ангелицина (2) в водном растворе при барботировании кислородом воздуха.  $\lambda_{\text{в}} = 313$  нм ( $c_0$  – начальная концентрация субстрата;  $c_t$  – концентрация субстрата в момент времени  $t$ )

Квантовые выходы фотопревращений, рассчитанные по начальным линейным участкам кинетических кривых, обобщены в табл. 2.

Таблица 2

**Квантовые выходы фотодеструкции ( $\Phi$ ) псораленов в воде и спирте**

Соединение	Псорален	Ангелицин	8-Метоксипсорален	5-Метоксипсорален
Вода	$0,01 \pm 0,002$	$0,025 \pm 0,0005$	$\sim 0,001$	$\leq 0,0003$
Этанол	$0,002 \pm 0,0005$	$\leq 0,00035$	$\sim 0,0008$	$\sim 0,0006$

Из табл. 2 видно, что псорален и ангелицин в водных воздушно-насыщенных растворах разрушаются эффективнее по сравнению с метоксизамещенными псораленами. Такое поведение согласуется с фотосольволизом, согласно которому первичной стадией является нуклеофильная атака молекулы растворителя на 4' или 5' углеродные атомы псоралена в возбужденном состоянии [10]. В этом случае метильные группы оказывают стерические препятствия присоединению растворителя (особенно в случае 5-метоксипсоралена), а также, по-видимому, снижают реакционную способность субстрата из-за увеличения электронной плотности на реакционном центре.

Из табл. 2 также следует, что при переходе к спирту фотохимическая устойчивость псоралена и ангелицина значительно увеличивается. Увеличение скорости темнового нуклеофильного замещения в воде, обладающей высокой сольватирующей способностью, известно из литературы [11]. По-видимому, аналогичный механизм влияния растворителя реализуется и в случае фотосольволиза псораленов.

Метоксипсоралены уже в водном растворе весьма устойчивы, фоторазлагаются с квантовыми выходами, близкими к пределу определения. В связи с этим получить достоверные данные о влиянии растворителя на эффективность их фотодеструкции не удалось.

Авторы выражают благодарность профессору А.Я. Потапенко за объекты, предоставленные для исследований.

1. Бенсанссон Р., Лэнд Э., Траскот Т. Флеш-фотолиз и импульсный радиолиз. Применение в биохимии и медицинской химии: Пер. с англ. М.: Мир, 1987. 398 с.
2. Fernandez E., Reyes A., Hidalgo M.E., Quilhot W. Photoprotector capacity of lichen metabolites assessed through the inhibition of the 8-methoxypsoralen photobinding to protein // J. Photochem. and Photobiol. B. 1998. V. 42. № 3. P. 195–201.
3. Song Pill-Soon and Tapley K.J. Photochemistry and photobiology of psoralens // Photochem. and Photobiol. 1979. V. 29. № 6. P. 1177–1197.
4. Anselmino C., Cadet J. Photoreaction of 5-methoxypsoralen with thymidine. Isolation and characterization of a pyrone-side monoadduct involving the pyrimidine methyl group // J. Photochem. and Photobiol. B. 1995. V. 27. № 2. P. 167–175.
5. Zarebska Z., Waszkowska E., Caffieri S., Dall'Acqua F. Photoreactions of psoralens with lecithins // J. Photochem. and Photobiol. B. 1998. V. 45. № 2–3. P. 122–130.
6. Frank S., Caffieri S., Raffaelli A., Vedaldi D., Dall'Acqua F. Characterization of psoralen – oleic acid cycloadducts and their possible involvement in membrane photodamage // J. Photochem. and Photobiol. B. 1998. V. 44. № 1. P. 39–44.
7. Marley K.A., Larson R.A., Davenport R. Redox mechanisms of furocoumarin phototoxicity // The Spectrum. 1995. V. 8. № 2. P. 9–13.
8. Калверт Дж., Пунтс Дж. Фотохимия. М.: Мир, 1968. 625 с.
9. Кузнецова Н.А., Каля О.Л. Фотохимия кумаринов // Успехи химии. 1992. Т. 61. Вып. 7. С. 1243.
10. Caffieri S. Furocoumarin photolysis: chemical and biological aspects // Photochem. Photobiol. Sci. 2002. V. 1. № 3. P. 149–157.
11. Сайкс П. Механизмы реакций в органической химии. М.: Химия, 1971. С. 73.

*N.E. Koval'skaya, N.A. Kuznetsova, I.V. Sokolova.* **Spectral determination of quantum yields of photodestruction of psoralens in aqueous and alcohol media.**

The phototransformation quantum yields of different psoralens in water and alcohol were estimated. It was shown that photodegradation of psoralen and angelicin in water under irradiation at 313 nm had the quantum yields  $0.01 \pm 0.002$  and  $0.025 \pm 0.005$ , respectively. In alcohol the photostability of psoralen and angelicin sharply increased. The methoxysubstituted psoralens already in the aqueous solution are stable enough to UV irradiation. The psoralen states in the aqueous solution were studied and the main direction of photodestruction of these compounds was offered.