МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Фізичний факультет
Кафедра фізики металів

На правах рукопису

Генерація синглетного кисню в наносистемах для фотодинамічної терапії

Галузь знань: 10 Природничі науки
Спеціальність: 104 Фізика та астрономія
Освітня програма: Фізика

Кваліфікаційна робота бакалавра
студента 4 курсу навчання
Михайла ДОЦЕНКА

Науковий керівник:
доктор фізико-математичних наук,
професор, професор кафедри
експериментальної фізики
Валерій ЯЩУК

Робота заслухана на засіданні кафедри фізики металів та рекомендована до захисту на ЕК, протокол №11 від «10» червня 2021р.

Завідувач кафедри фізики металів Василь КУРИЛЮК

Київ – 2021

ВИТЯГ

з протоколу №_____

засідання Екзаменаційної комісії

Визнати, що студент _____ виконав та захистив кваліфікаційну роботу бакалавра з оцінкою _____.

Голова ЕК _____

«____» _____ 2021 р.

АНОТАЦІЯ

Михайло ДОЦЕНКО. Генерація синглетного кисню в наносистемах для фотодинамічної терапії.

Кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 104 Фізика та астрономія, освітня програма «Фізика». – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет, кафедра фізики металів. – Київ – 2021.

Науковий керівник: доктор фізико-математичних наук, професор Валерій ЯЩУК, професор кафедри експериментальної фізики.

Проведено вимірювання спектрів випромінювання синглетного кисню у ближній ІЧ області для зразків хлорину e_6 у присутності наночастинок оксиду гафнію, наночастинок полістиролу з інкорпорованими молекулами дифенілокасзолу та зразків берберину з водним розчином наночастинок срібла у дистильованій воді та в буфері Tris-HCL.

Ключові слова: синглетний кисень, фотодинамічна терапія, фотосенсибілізатор, хлорин e_6, берберин, наночастинки.

SUMMARY

Mikhailo DOTSENKO. Generation of singlet oxygen in nanosystems for photodynamic therapy.

Bachelor qualification work in the specialty 104 Physics and Astronomy, educational program «Physics». – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Faculty of Physics, Department of Physics of Metal. – Kyiv. – 2021.

Research supervisor: Doctor of Physics and Mathematics, professor Valery YASHCHUK, professor of Department of Experimental Physics.

Measurements of singlet oxygen radiation spectra in the near-IR zone were performed for chlorine e_6 samples in the presence of hafniun oxide nanoparticles, polysterene nanoparticles with dihenylocasol molecules and berberine samples

with an aqueous solution of silver nanoparticles in distilled water and in Tris-HCL buffer.

Key words: singlet oxygen, phohodynamic therapy, photosensitizer, chlorine $e_{6,}$ berberine, nanoparticles.

ЗМІСТ

ВСТУП 3

I.ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ..... 4

1.1. Електронна структура молекулярного кисню..... 4

1.2. Роль фотосенсибілізатора в процесі переносу енергії 6

1.3. Механізми перенесення електронних збуджень. Диполь-дипольний та обмінний механізми елементарних актів передачі енергії електронних збуджень.....8

1.4. Проблеми ФТД в рентгенівському діапазоні енергії. Постановка задачі.....11

II.МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ 13

III.РЕЗУЛЬТАТИ ВИМІРЮВАНЬ.....15

3.1. Спектри випромінювання у системах«Хлорин e_6 + наночастинки оксиду гафнію/наночастинки полістиролу у дистильованій воді».....16

3.2. Спектри випромінювання у системах «Хлорин e_6 + наночастинки оксиду гафнію/наночастинки полістиролу на буфері Tris-HCL».....19

3.3. Спектри випромінювання у системах «Берберин + наночастинки срібла у дистильованій воді».....21

3.4. Спектри випромінювання у системах «Берберин + наночастинки срібла у буфері Tris-HCL».....24

3.5. Спектри випромінювання у системах «Берберин + молекули ДНК у дистильованій воді».....26

IV.ВИСНОВКИ 30

V.СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ 31

ВСТУП

На сьогоднішній день великого розповсюдження у лікуванні, перш за все, онкологічних захворювань набув метод фотодинамічної терапії (ФДТ). Знищення ракової пухлини у цьому методі здійснюється за допомогою взаємодії синглетного кисню з раковими клітинами, що призводить до їхньої загибелі [1].

Для того, щоб отримати синглетний кисень всередині пухлини, до неї вводять розчин, який містить фотосенсибілізатор – речовину, молекули якої при їх опроміненні світлом деякої довжини хвилі можуть перейти до збудженого стану і при поверненні до основного передати енергію молекулі кисню, якщо така буде знаходитись недалеко. Молекула ж кисню витратить цю енергію на перехід до збудженого, синглетного стану, у якому вона є токсичною і спричиняє загибель ракових клітин [1].

Для збудження фотосенсибілізатора (ФС) при лікуванні використовують лазер, випромінювання якого має таку ж довжину хвилі, що і максимум поглинання ФС. При цьому на ефективність лікування впливає і спектр пропускання тканин, що знаходяться між лазером і пухлиною. Цей фактор, разом із розсіянням випромінювання в тканинах, є суттєвим обмеженням методу фотодинамічної терапії. Навіть при виборі оптимальної довжини хвилі (зазвичай обирають із проміжку 650-950 нм) глибина проникнення випромінювання складає декілька міліметрів, що дозволяє знищувати клітини, які розташовані на глибині приблизно 1 см [1].

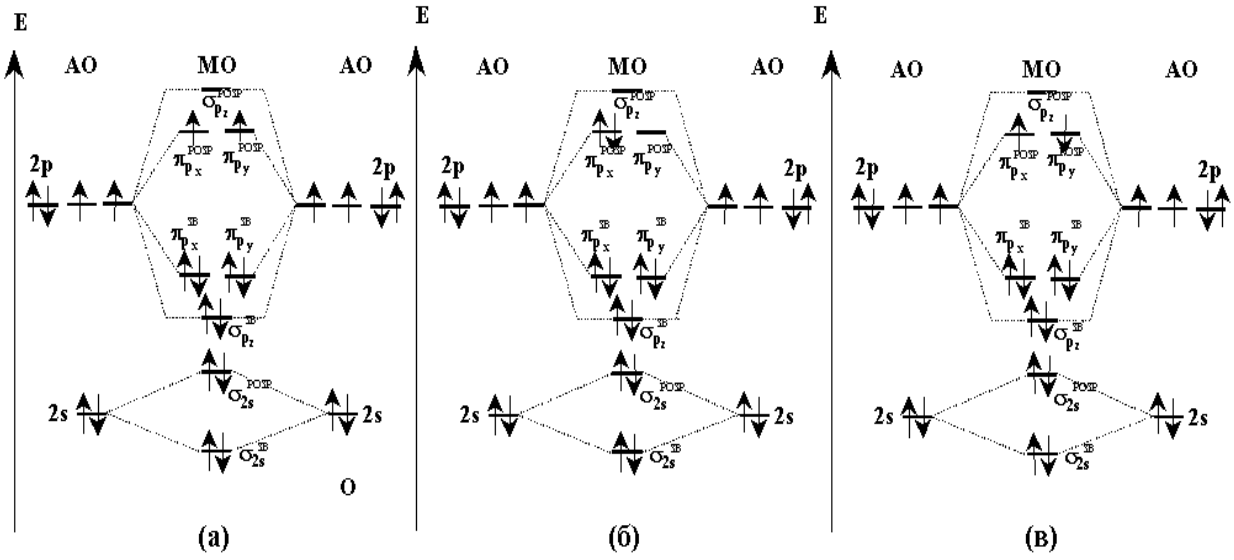
З іншого боку, далеко не всі відомі речовини, що можуть використовуватись у ролі ФС є детально вивченими, а отже нові дослідження можуть значно розширити область використання методу фотодинамічної терапії [7].

І.ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Електронна структура молекулярного кисню. Роль синглетного кисню в процесах фотоокислення

На сьогоднішній день найбільш розповсюдженим способом генерації синглетного кисню в органічних розчинах є використання явища фотосенсибілізації. У цьому випадку для генерації необхідна наявність у системі, крім власне кисню, фотосенсибілізатора. Це – клас речовин (до яких можуть входити наносистеми або барвники), які мають здатність при опроміненні електромагнітним випромінюванням спричиняти виникнення синглетного кисню за рахунок перенесення енергії до молекул кисню, що знаходяться в основному, триплетному, стані. Таких речовин відомо близько тисячі, однак детально було вивчено лише кілька десятків [7].

Молекула кисню складається з двох атомів, кожен з яких має у своєму складі по вісім електронів. Електронна структура молекули може бути наближено представлена як лінійна комбінація електронних орбіталей обох атомів [1], [5]:



На схемі позначені схеми орбіталей атомів (АО) і молекули (МО) кисню (окрім тих, що складаються з 1S-електронів) в основному (а) і двох

збуджених - (б) та (в) – станах. Стан (б) називають першим збудженим, а стан (в) – другим. Основний стан є триплетним, а збуджені – синглетними [1].

Розглянемо молекулярні орбіталі, що відповідають 2S-орбіталям атома. Це – дві орбіталі, що мають різні рівні енергії. Вони являють собою нормовану суму та різницю атомних орбіталей. Результат суми називають зв'язуючою, а результат різниці – розрихляючою орбіталлю. Подібним чином з шести атомних 2p-орбіталей можна отримати по три зв'язуючих та розрихляючих орбіталі [1].

Відмінність між основним і збудженими станами полягає в направленості спінів електронів на розрихляючих $\pi^{розр}$-орбіталях – якщо спіни направлені однаково, молекула знаходиться в основному стані. Стан, при якому електрони мають протилежні спіни і знаходяться на одній орбіталі, називають першим збудженим, а той, при якому вони знаходяться на різних орбіталях – другим [1], [5].

Різниця енергій між першим збудженим ($^1\Delta$) та основним ($^3\Sigma$) станами становить 94,3 кДж/моль, що відповідає випроміненню на довжині хвилі 1270 нм, а між другим збудженим ($^1\Sigma$) та основним – 156,95 кДж/моль, що відповідає випроміненню на 762 нм. Спінова мультиплетність основного стану дорівнює трьом, а збуджених, синглетних – одиниці. Таким чином, синглетні стани є нестабільними за першим правилом Гунда і молекулі енергетично вигідно повернутись у триплетний стан, випромінюючи на зазначених довжинах хвиль [5].

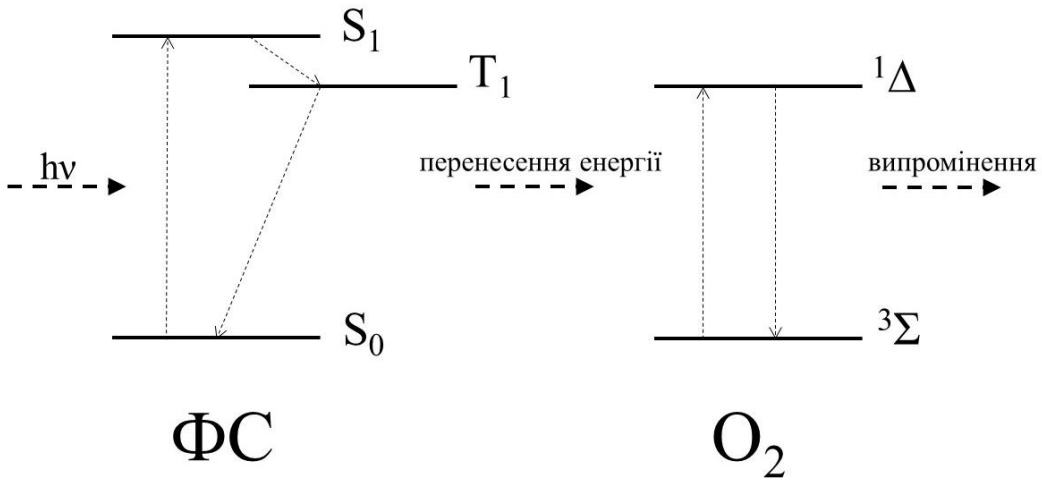
З іншого боку, прямий оптичний перехід від основного до будь-якого із збуджених станів заборонений за мультиплетністю і є малоймовірним. А отже, неможливо отримати синглетний кисень, надавши йому енергію для переходу шляхом опромінення системи [5].

Цю проблему можна розв'язати, додавши до системи фотосенсибілізатор (ФС), молекули якого після поглинання енергії випромінювання можуть

перейти до збудженого стану і в процесі повернення до основного передати енергію збудження молекулам кисню, які в свою чергу зможе перейти у синглетний стан [1].

1.2 Роль фотосенсибілізатора в процесі переносу енергії

Розглянемо систему «молекула ФС + молекула кисню». У ФС, як і у більшості органічних молекул, основним станом є синглетний. При поглинанні енергії світла деякої визначеної довжини хвилі вона може перейти до збудженого триплетного стану, причому повернення до основного, синглетного є забороненим правилами відбору [2]. Для кисню перехід з основного стану до збудженого також є забороненим. Однак, якщо ці два заборонені переходи будуть відбуватись як єдиний процес, то сумарний спін двох молекул не зміниться і цей процес буде дозволеним правилами відбору. При цьому кисень перейде до стану $^1\Delta$, який є нестабільним, а отже молекула повернеться у свій основний триплетний стан, випромінюючи при цьому на довжині хвилі 1270 нм [1], [8]:



Подібні процеси, в яких молекула збуджується не за рахунок її опромінення, а за допомогою переносу енергії від іншої молекули,

називають сенсибілізованими. Молекулу, яка передає енергію, називають донорною, а яка приймає – акцепторною [2].

Сенсибілізовані процеси можна умовно зобразити таким чином:

$$D^* + A \rightarrow D + A^*, \qquad (1)$$

де D та A – відповідно донорна та акцепторна молекули, D* та A* - їх збуджені стани [2].

Такі процеси поділяють на дві групи:

1)Випромінювальні

2)Безвипромінювальні

Випромінювальний процес – це процес випромінювання енергії донорною молекулою і її поглинання акцептором. Вони мають місце тоді, коли молекули знаходяться на відстані, більшій за довжину хвилі випромінювання донорної молекули [2]. Крім того, для ефективного переносу енергії таким способом необхідне перекриття спектрів випромінення донору та поглинання акцептору. Одним із результатів випромінювальної передачі енергії є явище внутрішнього фільтру – зниження інтенсивності випромінювання донорної молекули в області перекриття спектрів [2].

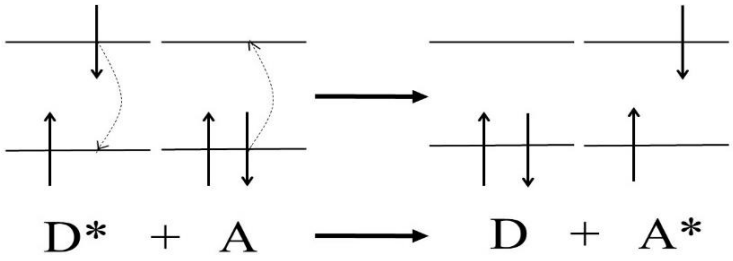
На відміну від випромінювальних, безвипромінювальні процеси відбуваються на малих відстанях і потребують наявності взаємодії між молекулами. Крім того, умовою їх здійснення також є наявність перекриття спектрів для того, щоб деякі переходи донора мали однакову енергію з відповідними їм переходами акцептора. Цей тип перенесення енергії називають резонансним. Можна виділити два механізми, за якими в такому випадку буде відбуватись передача енергії [2]:

1) Диполь-дипольний (механізм Фьорстера)

2) Обмінний (механізм Декстера)

1.3 Механізми перенесення електронних збуджень. Диполь-дипольний та обмінний механізми елементарних актів передачі енергії електронних збуджень

Взаємодію між донором та акцептором можна розглядати як суму взаємодій, що використовуються у цих двох механізмах. Розглянемо перший з них. Механізм Фьйорстера переважає на відстанях між молекулами 1-10 нм і може застосовуватись тоді, коли електронні переходи у донорній та акцепторній молекулах дозволені [2]. Тоді перенесення енергії відбувається за допомогою електростатичної взаємодії диполів, у якості яких можна розглядати молекули. Електрон молекули D* при її переході у основний стан передає енергію електрону молекули А, після чого ця молекула переходить у збуджений стан [2]:



У розробленій Фьйорстером теорії для цього випадку такий процес передачі енергії розглядається як адіабатичний [2]. Це передбачає швидку релаксацію акцепторної молекули для забезпечення невідворотності усього процесу. Імовірність передачі енергії за одиницю часу в такому випадку дорівнює [2]:

$$K_e = 8{,}8 \cdot 10^{-29} \frac{K^2 Q_D B}{n^4 \tau_D R^6} \quad , \qquad (2)$$

де K - множник, що враховує орієнтації молекул, Q_D – квантовий вихід випромінювання донора, τ_D – час життя донора за відсутності переносу

енергії (безвипромінювальне перенесення зменшує цей час), n – показник заломлення середовища, R – відстань між молекулами, B – інтеграл перекриття спектрів випромінювання донорної та поглинання акцепторної молекул [2]:

$$B = \int_0^\infty \frac{F_D(\nu)\varepsilon_A(\nu)}{\nu^4} d\nu \ , \qquad (3)$$

де $F_D(\nu)$ – нормований ($\int F_D(\nu)\, d\nu = 1$) спектр випромінювання донора, , ε_A - молярний коефіцієнт поглинання акцептора.

Вираз (2) можна переписати і так [1]:

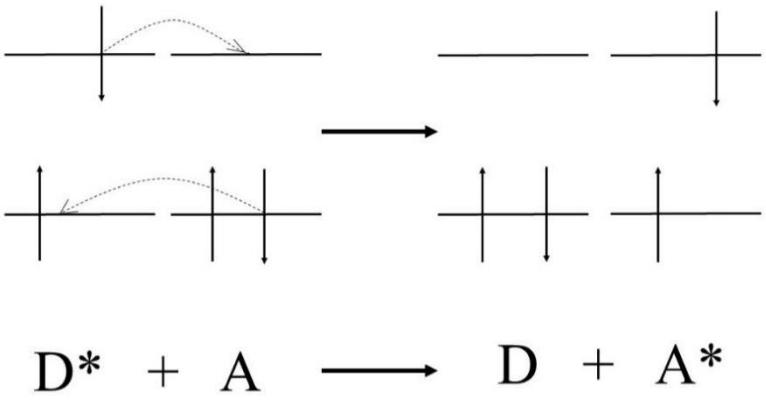
$$K_e = \frac{1}{\tau_D}\left(\frac{R_0}{R}\right)^6, \qquad (4)$$

де R_0 - критична відстань або радіус Фьорстера. Цю величину вводять як відстань, на якій ймовірність переносу збудження за одиницю часу дорівнює ймовірності спонтанної дезактивації донорної молекули (з умови $K_e\tau_D = 1$) [2]. Її можна знайти з (2):

$$R_0(nm) = 2{,}89 \cdot 10^{-5}\left(\frac{\kappa^2 Q_D B}{n^4}\right)^{\frac{1}{6}} \qquad (5)$$

У виразі (2) імовірність переносу енергії обернено пропорційна шостій ступені відстані між молекулами, тож для ефективного переносу енергії ця відстань повинна бути малою.

Якщо ж електронні переходи в акцепторній молекулі є забороненими, передача енергії може відбуватись із використанням обмінної взамодії за механізмом Декстера [2]. При цьому збудження передається за допомогою обміну електронами між донорною та акцепторною молекулами:



$$D^* + A \longrightarrow D + A^*$$

У такому випадку молекули повинні знаходитись на невеликій відстані (меншій за 1 нм) [2]. Фізична причина цього полягає в тому, що для ефективної обмінної взаємодії хвильові функції електронів донора і акцептора повинні перекриватись, що можливо тільки на малих відстанях.

За допомогою теорії збурень Декстер отримав такий вираз для імовірності передачі енергії за одиницю часу [2]:

$$P = \frac{2\pi}{\hbar^2} z^2 \int \mathrm{F}_D(E) \cdot \varepsilon_A(E)\, dE, \qquad (6)$$

де z^2 - параметр, який можна наближено представити як

$$z^2 \approx Y \exp\left(-\frac{2R}{L}\right) \qquad (7)$$

де L - середній радіус Бора для збудженого та незбудженого станів, Y – безрозмірна константа, величина якої Y<<1 [2].

При підстановці (7) в (6) видно, що ймовірність P залежить від відстані як $P \sim e^{-R}$. Ця залежність спадає зі збільшенням відстані швидше, ніж вираз (2) для механізму Фьйорстера. Це описує той факт, що обмінна взаємодія переважає на менших відстанях, ніж диполь-дипольна [1].

1.4 Проблеми ФТД в рентгенівському діапазоні енергії. Постановка задачі.

Метод фотодинамічної терапії за останні десятиліття став дуже широко вживаним при лікуванні багатьох захворювань, в першу чергу онкологічних [7]. Причиною цього є безпечність цього методу та його ефективність у боротьби з деякими хворобами. У той же час є суттєві обмеження ФТД, в першу чергу по глибині ефективного застосування, яка вимірюється в міліметрах [1]. Внаслідок особливостей поглинання світла тканинами людського тіла лазерний промінь оптичної частини спектру не може використовуватись для лікування пухлин, що локалізовані на глибині в декілька сантиметрів.

В той же час рентгенівське випромінювання має достатньо енергії, щоб проникнути на таку глибину і при цьому є достатньо безпечним для організму людини (при дотриманні всіх заходів безпеки). Це призвело до появи методу, який називають рентгенодинамічною терапією. Він передбачає використання випромінювання рентгенівського діапазону для збудження фотосенсибілізатора і генерації синглетного кисню.

Проте внаслідок високої енергії фотонів (порядку кеВ-МеВ) рентгенівське випромінювання не може використовуванись для безпосереднього збудження фотосенсибілізатора (оскільки енергія такого збудження є величиною порядку еВ), тому зазвичай до розчину, окрім ФС, додають наночастинки (НЧ), які отримали назву сцинтиляційних. При потраплянні до цих НЧ рентгенівське випромінювання призводить до їхньої іонізації, що створить велику кількість вторинних електронів, які можуть передати достатньо енергії для збудження молекул або атомів сцинтилятора. У свою чергу сцинтиляційна НЧ передає збудження молекулі ФС, який генерує синглетну форму кисню.

Проте, ефективність збудження ФС таким методом не є високою, оскільки вторинні електрони мають завелику енергію в порівнянні з необхідною для збудження молекул НЧ. Довжина їх вільного пробігу, як наслідок, становить декілька сотень нм, і велика кількість електронів вилітає за межі НЧ, не вносячи ніякого вкладу у збудження ФС.

У даній роботі досліджуються наносистеми, які створені з метою збільшення кількості електронів, що приймають участь у генерації синглетного кисню. Ці системи складаються з комбінації сцинтиляційних наночастинок, які містять елементи з важкими ядрами, органічної матриці, якій вторинні електрони передадуть енергію збудження, і фотосенсибілізатора.

У якості матеріалу для сцинтиляційних НЧ використовувались оксид гафнію HfO_2 та срібло, для органічних матриць - ДНК та наночастинки полістиролу (PS) з інкорпорованими молекулами дифенілокасзолу (PPO), у якості фотосенсибілізатора використовувались хлорин e_6 та берберин, структурні формули яких наведені на Рис. 1.1 та Рис. 1.2 [3], [6], [4]:

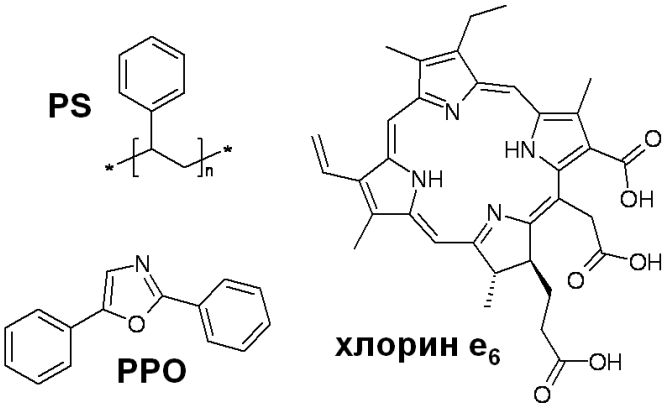


Рис. 1.1

Структурні формули PS, PPO та хлорину e_6

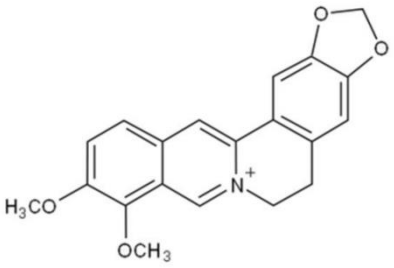


Рис. 1.2

Структурна формула берберину

ІІ. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Молекулярний кисень при переході з першого збудженого до основного стану випромінює у ближній інфрачервоній області спектру, пік цього випромінювання має довжину хвилі 1270 нм [8]. Його реєстрація дає уявлення про ефективність генерації синглетного кисню в тому чи іншому розчині [5].

Блок-схема експериментальної установки, що використовувалась у даній роботі для збудження і реєстрації випромінення молекулярного кисню, представлена на Рис. 2.1 (червоним кольором позначено силові з'єднання, зеленим – сигнальні, жовтим – з'єднання керування, синім – USB) [5]:

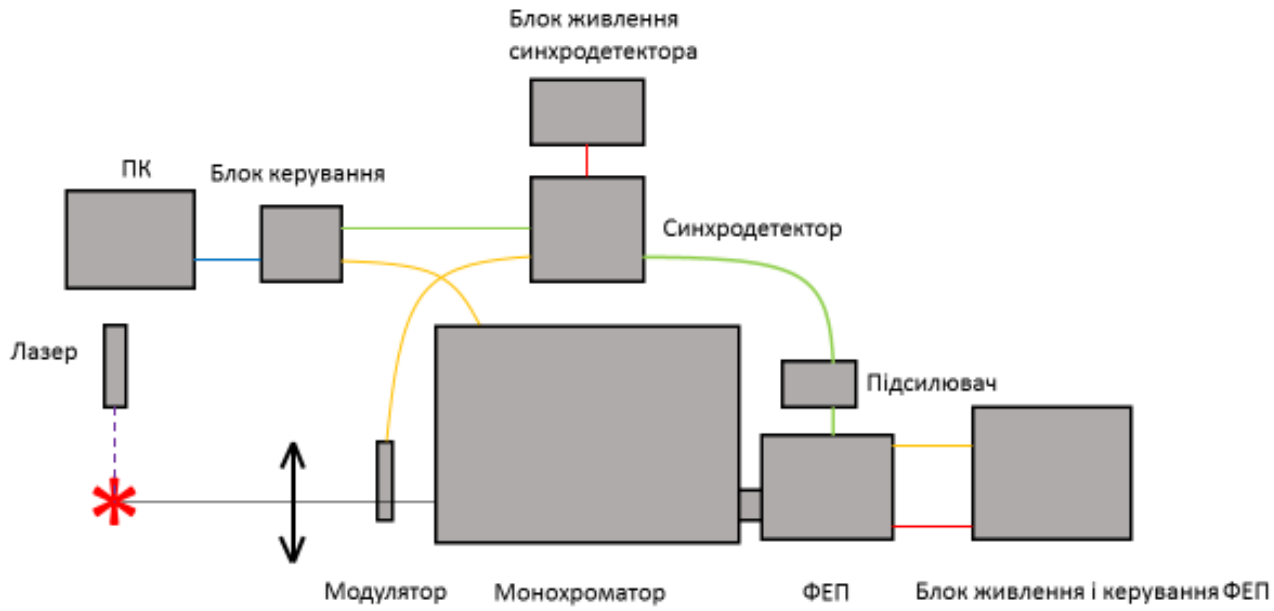


Рис. 2.1

Розчин, що містить ФС, знаходиться у прозорій кюветі зі стороною в 1 см. Цей зразок опромінюється лазером потужністю 200±50 mW та довжиною хвилі 405 нм [5]. Випромінювання, отримане збудженням молекул розчину, перед потраплянням на вихідну щілину монохроматора проходить через модулятор синхродетектора. Диск модулятора швидко обертається, відкриваючи та закриваючи щілину на короткі проміжки часу. Таким чином,

на синхродетектор приходить два види сигналу: «фон + випромінювання зразка» та «фон». Ці сигнали віднімаються, в результаті чого отримується більш точна інформація про випромінення розчину [5].

Після проходження модулятора промінь попадає на оптичну систему монохроматора. В експериментах використовувався градковий монохроматор МДР-23, який, маючи дифракційну градку щільністю 600 штрихів на міліметр, здатен використовуватись для вимірів у діапазоні від 700 до 2000 нанометрів, що значно перекриває область, у якій проводились виміри. Під час експериментів монохроматор робить один відлік кожні два нанометри, що дає достатню точність [5].

Після монохроматора випромінення потрапляє на ФЕП – фотопомножувач HAMAMATSU PHOTONICS H 10330A, який має високу чутливість у діапазоні 950-1350 нм. З нього сигнал, після фільтрації від шуму, потрапляє на ПК, де запам’ятовується у вигляді спектру [5].

ІІІ.РЕЗУЛЬТАТИ ВИМІРЮВАНЬ

Експерименти проводились із такими зразками: хлорин e_6 (5мкМ) у дистильованій воді у присутності наночастинок оксиду гафнію, наночастинок полістиролу з інкорпорованими молекулами дифенілокасзолу (PS-PPO), а також в буфері TRIS-HCL, pH 7.2 у різних комбінаціях.

Спектри поглинання цих зразків (в буфері TRIS-HCL, pH 7.2):

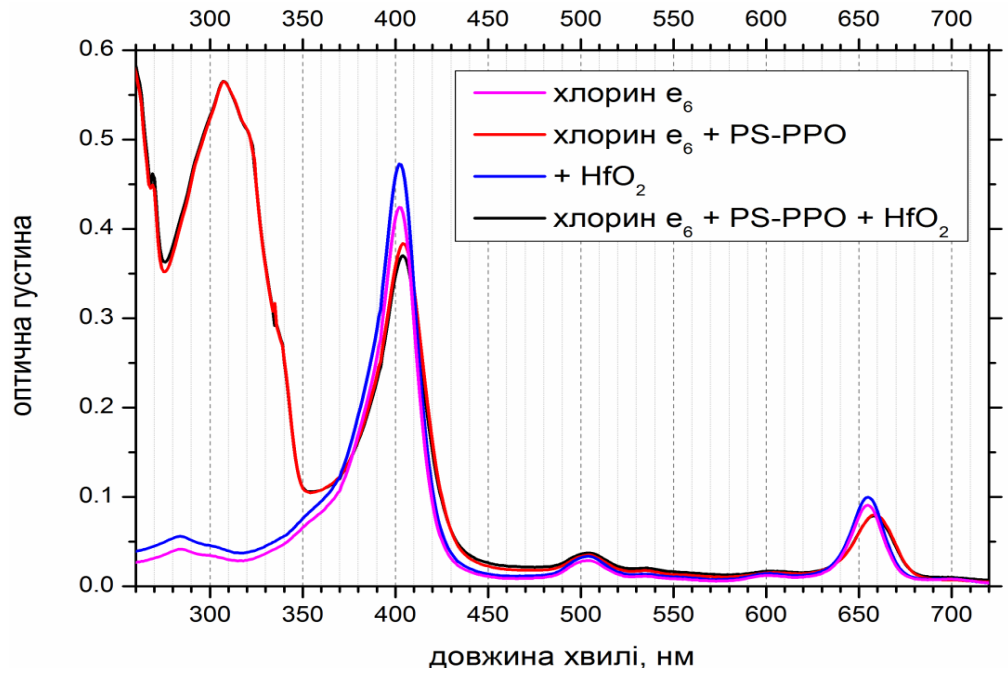


Рис. 3.1

На цьому спектрі можна побачити максимум поглинання в області довжини хвилі 405 нм, що спостерігається для всіх зразків. Це означає, що додавання PS-PPO та наночастинок оксиду гафнію не впливає на властивості поглинання хлорину e_6 у цій спектральній області. Отже, дані системи є перспективними для дослідження їхнього випромінювання у ближній інфрачервоній зоні.

Дослідження випромінювання проводились при збудженні зразків лазером, довжина хвилі якого складала 405 нм, що знаходиться в області максимуму поглинання спектру, що зображений на Рис. 3.1.

3.1 Спектри випромінювання у системах

«Хлорин e_6 + наночастинки оксиду гафнію/наночастинки полістиролу у дистильованій воді»

У даній роботі проводились вимірюваннння спектрів випромінювання систем, що містили різні комбінації фотосенсибілізатора, органічної матриці та металевих наночастинок при збудженні за допомогою лазера із довжиною хвилі 405 нм. Виміри проводились для випромінювання у ближній інфрачервоній ділянці спектру, в діапазоні довжин хвиль 1232-1300 нм. Ознакою успішної генеранії синглетного кисню в системі є характерний максимум випромінювання в області 1270 нм. Інтенсивність випромінювання зразків вимірювалась у відносних одиницях, чого достатньо для порівняння ефективності генерації синглетного кисню у різних системах.

Оскільки метою роботи було знаходження таких систем, у яких би органічна матриця і наночастинки не зменшували ефективність генерації синглетного кисню фотосенсибілізатором, найпершим вимірювався спектр випромінювання ФС без їх додавання:

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у дистильованій воді”:

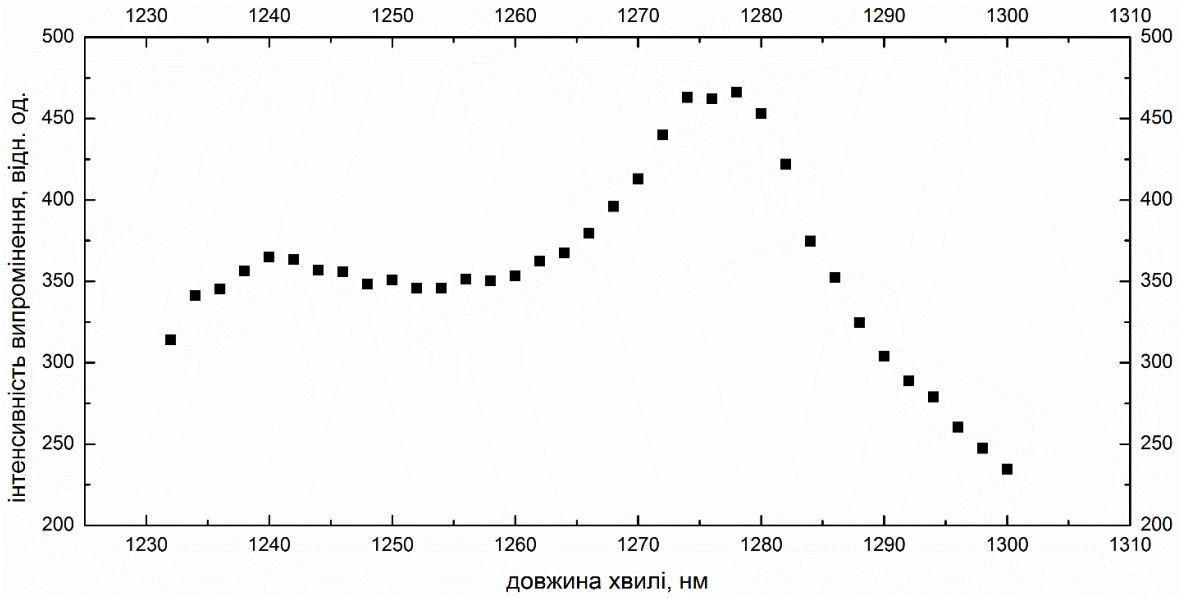


Рис. 3.2

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок полістиролу з інкорпорованими молекулами дифенілокасзолу (0,04% за масою) у дистильованій воді”:

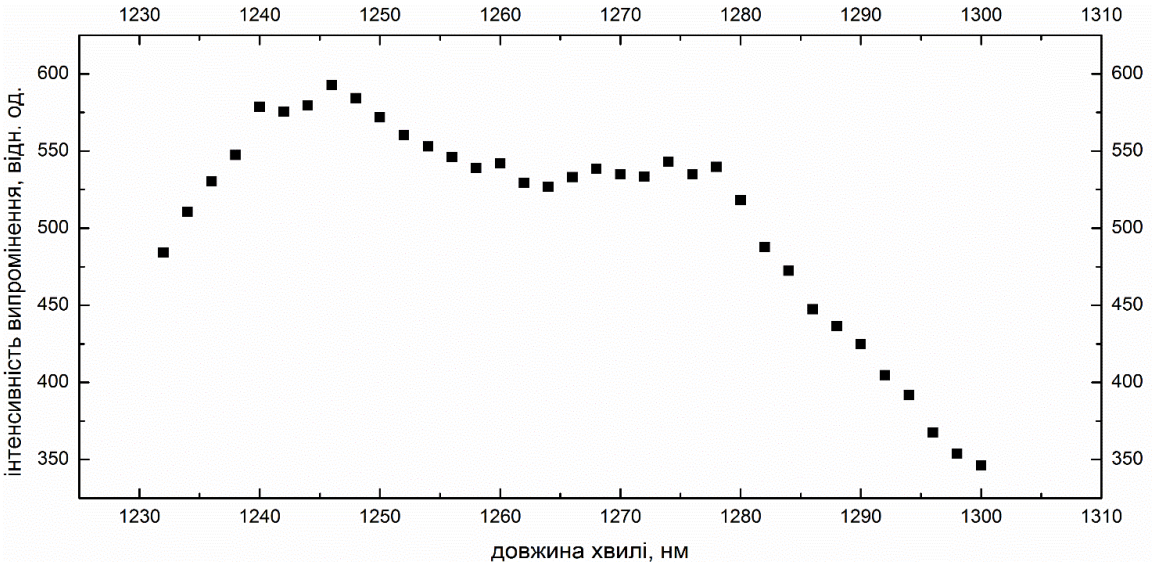


Рис. 3.3

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію HfO_2 (0,006% за масою) у дистильованій воді”:

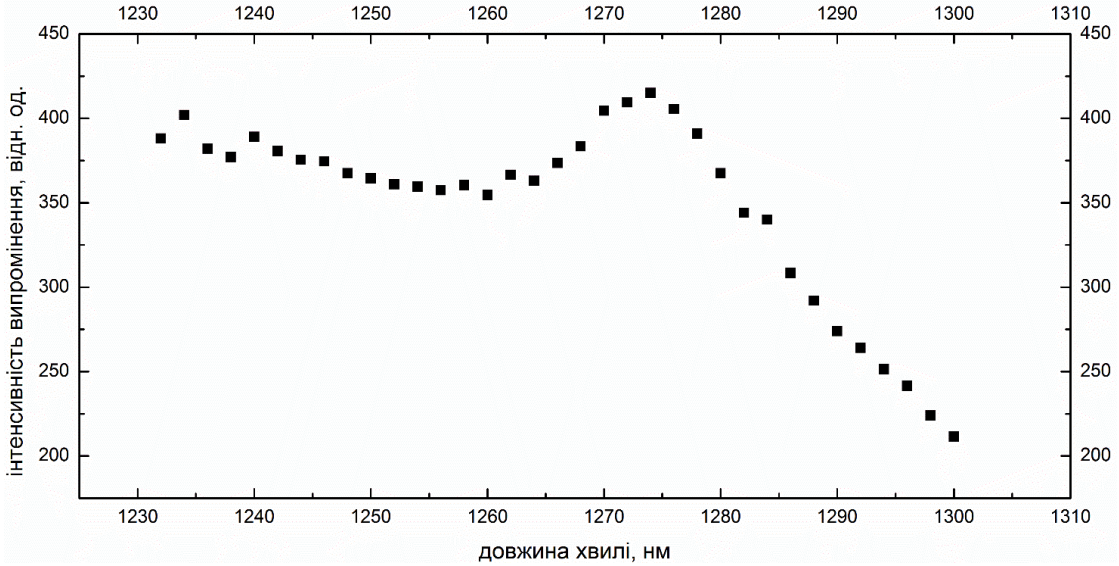


Рис. 3.4

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію HfO_2 (0,006% за масою) та полістиролу з

інкорпорованими молекулами дифенілокасзолу (0,04% за масою) у дистильованій воді”:

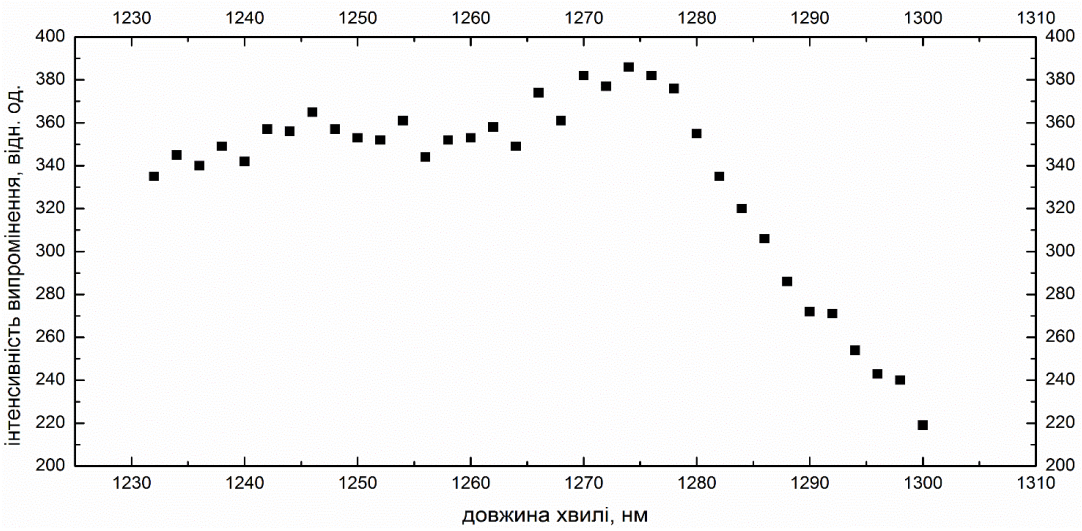


Рис.3.5

Найбільш явний максимум спектру випромінення синглетного кисню можна побачити у зразку “хлорин e_6 (5 мкМ) у дистильованій воді” без додавання наночастинок та органічної матриці, цей пік можна вважати еталонним (його зсунення на 8-10 нм відносно 1270 нм можна пояснити недосконалістю монохроматора). В порівнянні з ним, найкращі результати у генерації синглетного кисню (про що свідчать відповідні піки) показали системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію HfO_2 (0,006% за масою) у дистильованій воді” та “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію HfO_2 (0,006% за масою) та полістиролу з інкорпорованими молекулами дифенілокасзолу (0,04% за масою) у дистильованій воді”, спектри яких наведені на Рис. 3.4 та Рис. 3.5. При цьому видно, що наявність наночастинок оксиду гафнію не знижує ефективність генерації синглетного кисню, а отже відповідні зразки є перспективними для подальшого дослідження.

3.2 Спектри випромінювання у системах

«Хлорин e_6 + наночастинки оксиду гафнію/наночастинки полістиролу в буфері Tris-HCL»

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

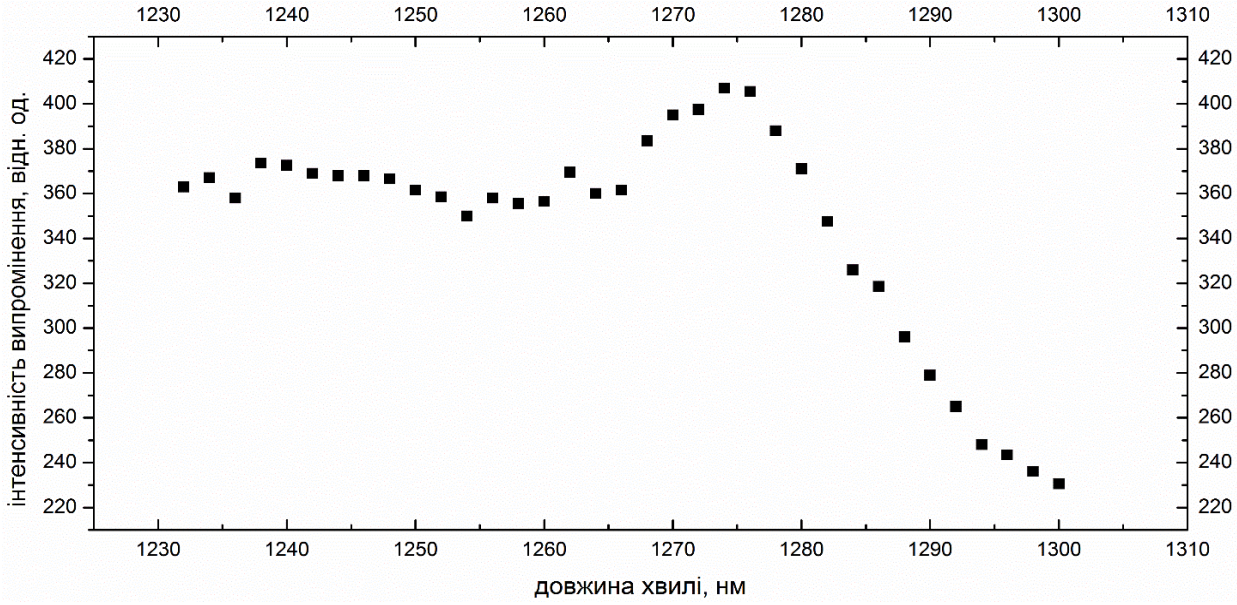


Рис. 3.6

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок PS-PPO (0,04% за масою) у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

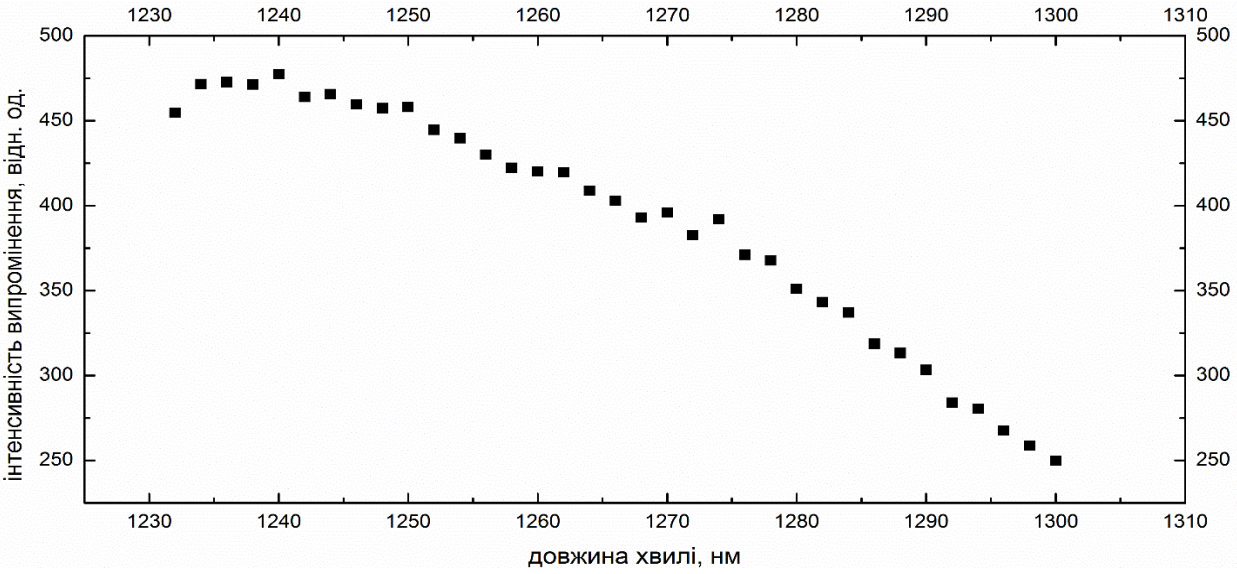


Рис. 3.7

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

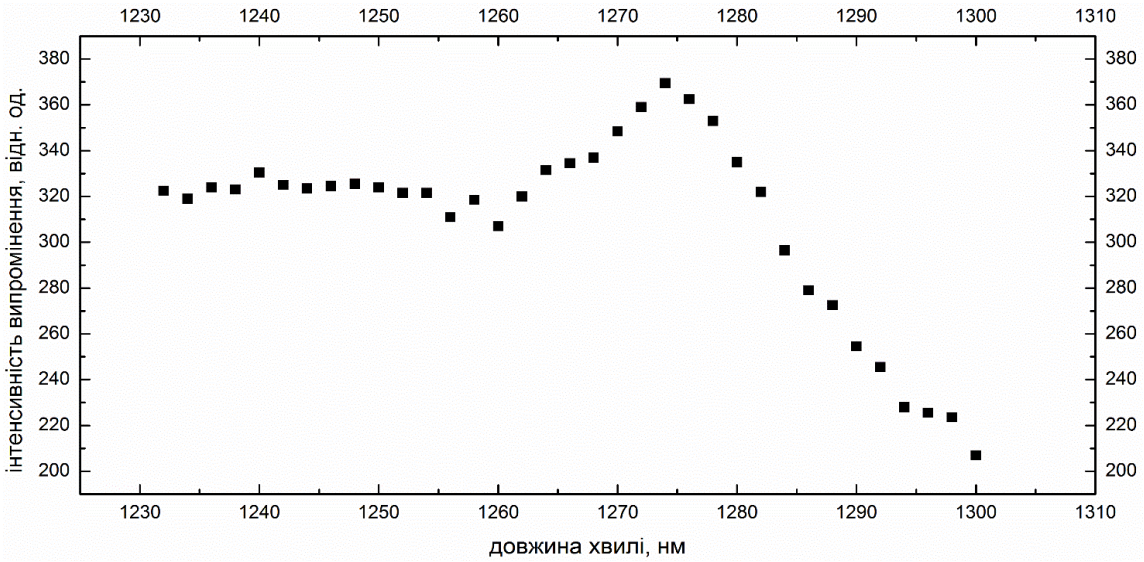


Рис. 3.8

Спектр випромінення системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію (0,006% за масою) та PS-PPO (0,04% за масою) у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

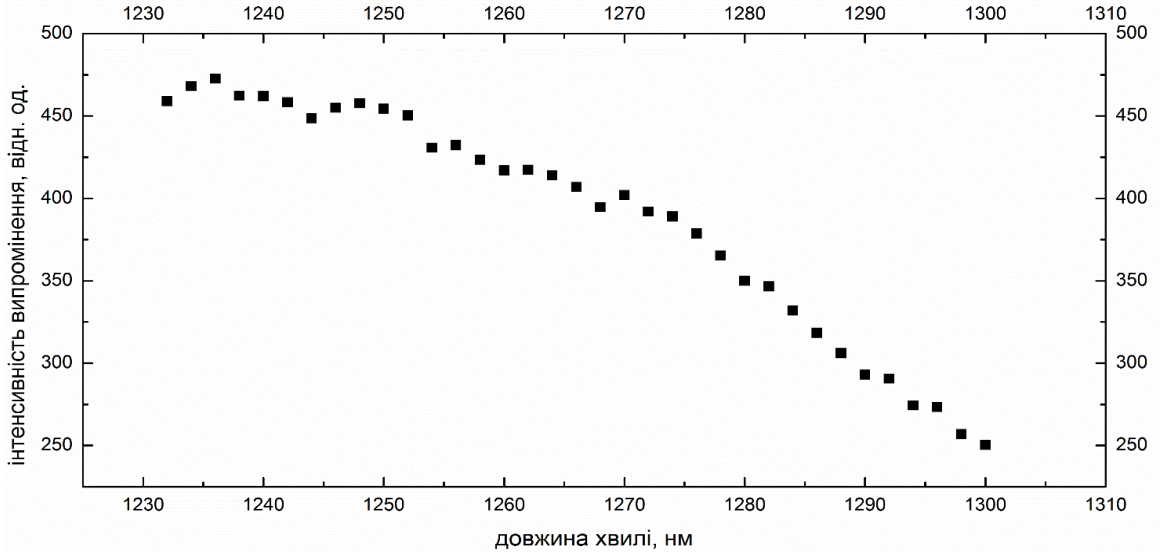


Рис. 3.9

На Рис. 3.6 наведений спектр випромінювання системи “хлорин e_6 (5 мкМ) у 50мМ буфері Tris-HCL ” без додавання органічної матриці чи металевих наночастинок, який можна вважати еталоном. В порівнянні з ним, найкращу

генерацію синглетного кисню (про що свідчить відповідний пік в області 1270 нм) показав зразок “хлорин e_6 (5 мкМ) у присутності наночастинок оксиду гафнію у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”, спектр випромінювання якого наведений на Рис. 3.8. Додавання ж молекул PS-PPO призводило до різкого зменшення ефективності генерації синглетного кисню як у присутності наночастинок оксиду гафнію, так і без них (відповідні спектри наведені на Рис. 3.7 і Рис. 3.9).

3.3 Спектри випромінювання у системах

«Берберин + наночастинки срібла у дистильованій воді »

Спектр випромінювання системи “берберин (5 мкМ) у дистильованій воді”:

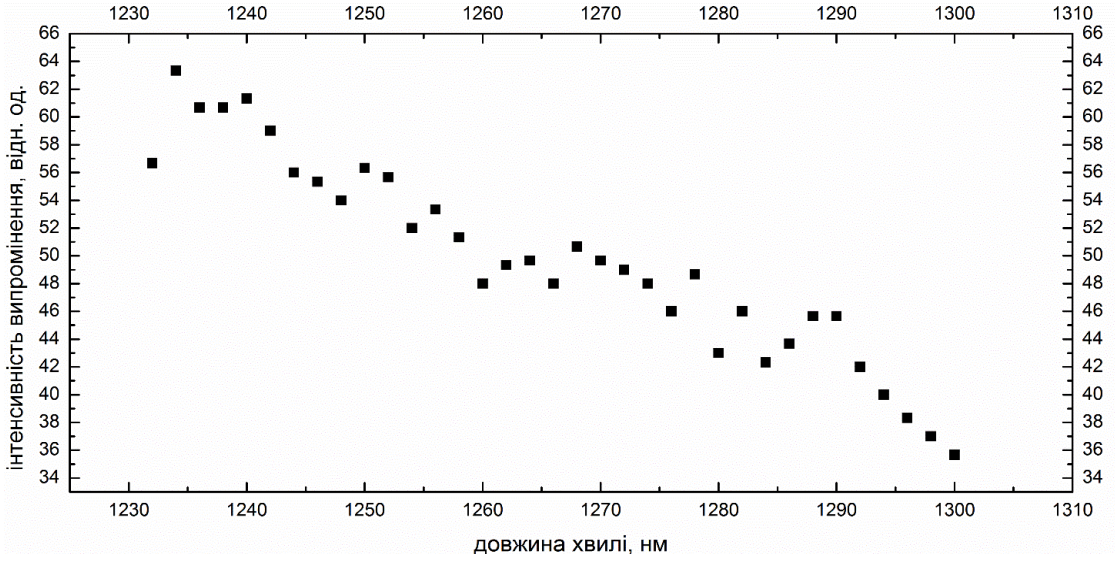


Рис. 3.10

Спектр випромінення системи “берберин (5 мкМ) з водним розчином наночастинок срібла (0,13% за масою), вирощених на ДНК (0,05% за масою), розчиненим у 40 раз у дистильованій воді”:

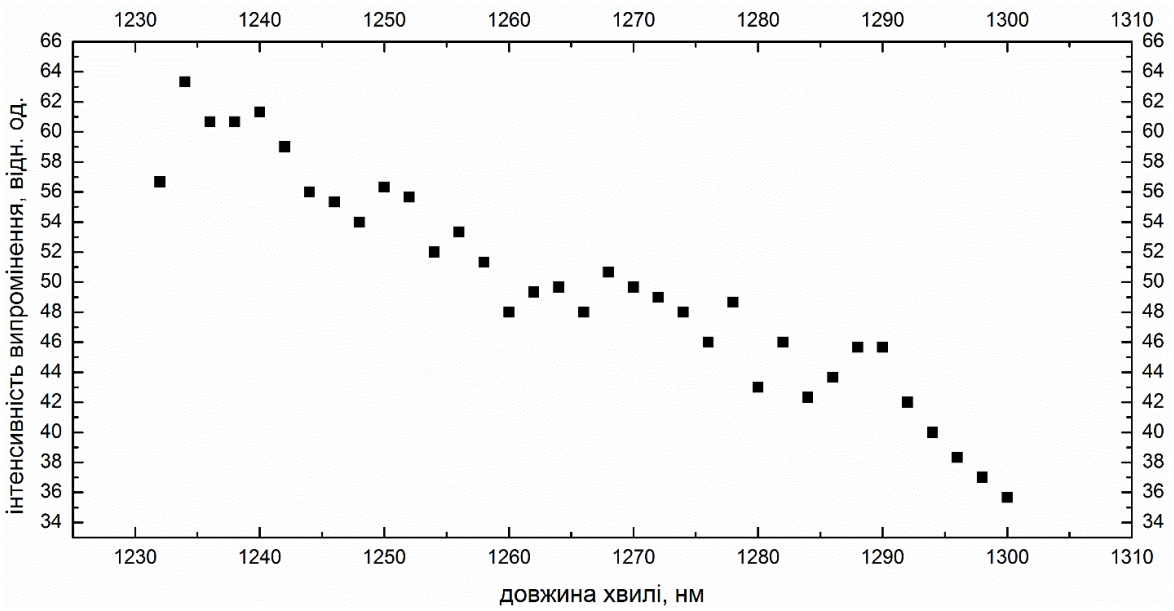


Рис. 3.11

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) у дистильованій воді”:

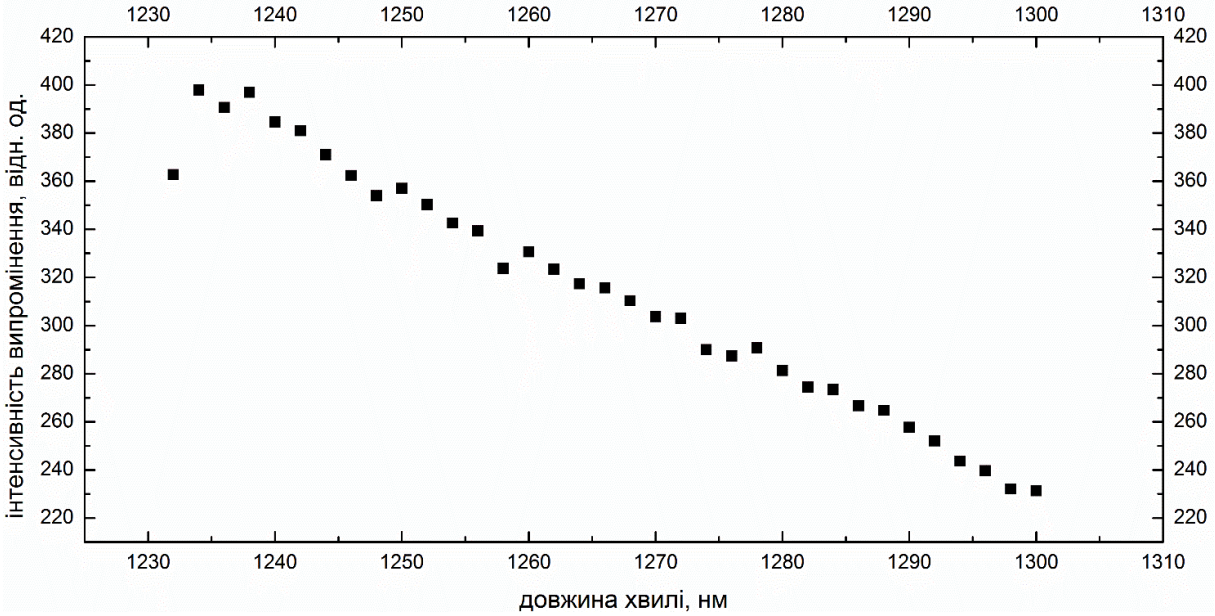


Рис. 3.12

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з водним розчином наночастинок срібла (0,13% за масою), вирощених на ДНК (0,05% за масою), розчиненим у 10 раз у дистильованій воді”:

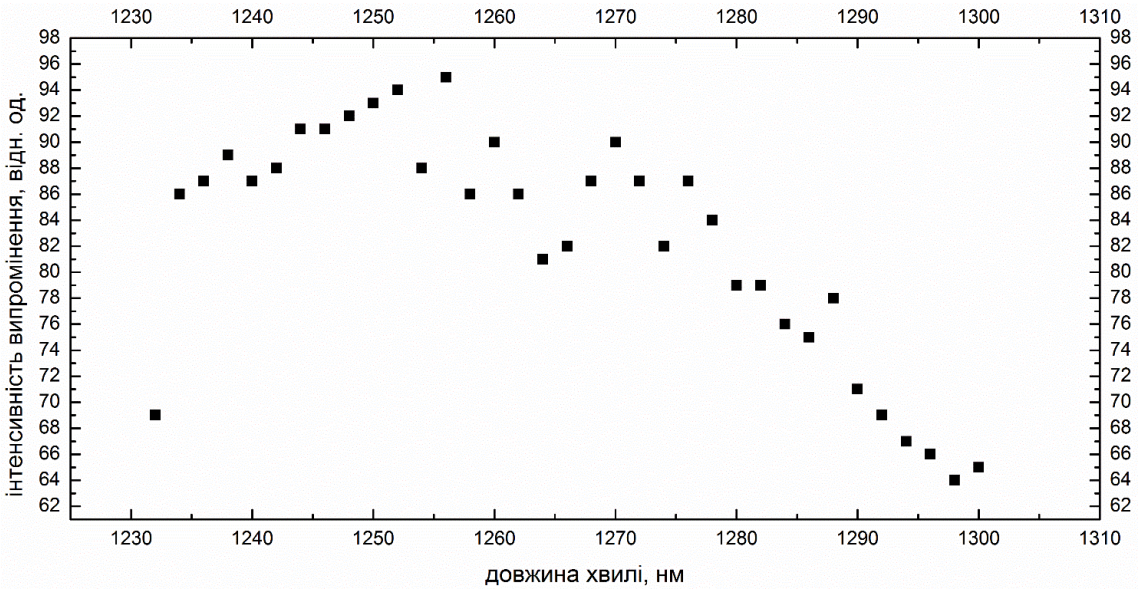


Рис. 3.13

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з водним розчином наночастинок срібла (0,025% за масою), вирощених на ДНК (0,05% за масою), розчиненим у 10 раз у дистильованій воді”:

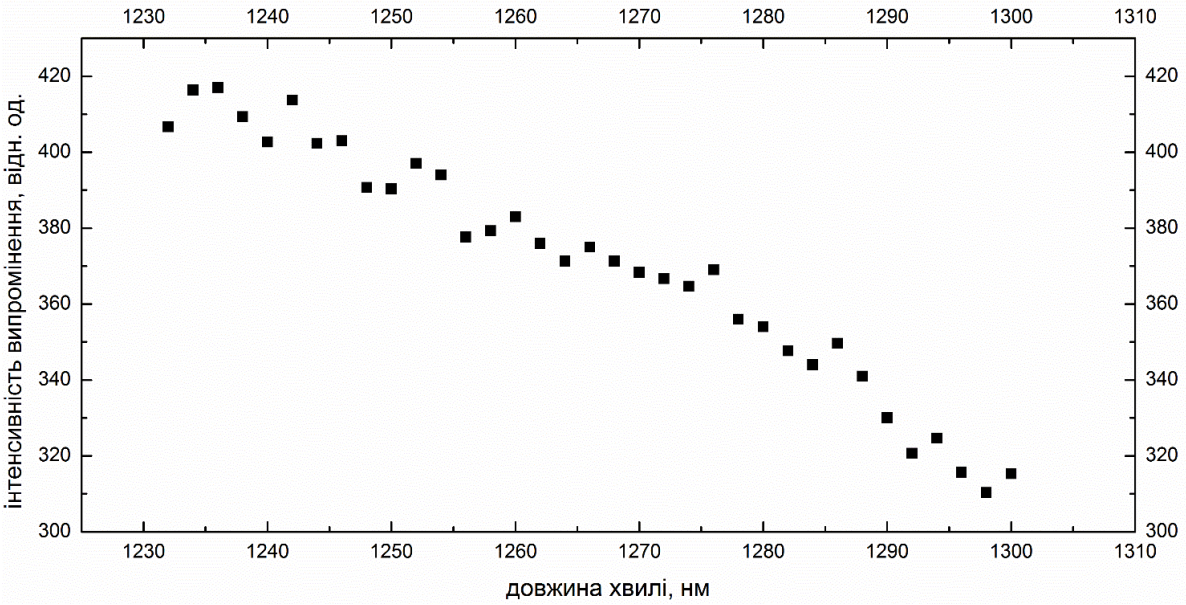


Рис. 3.14

Оскільки на наведених спекрах немає явних максимумів спектрів випромінювання в області 1270 нм, можна зробити висновок, що при опроміненні світлом із довжиною хвилі 405 нм синглетний кисень у зразках «Берберин + наночастинки срібла, вирощені на ДНК, у дистильованій воді » не генерувався або генерувався слабо. Це стосується не тільки систем, що

містять такі наночастинки, а й еталонних зразків систем “берберин (5 мкМ) у дистильованій воді” та “берберин (50 мкМ) у дистильованій воді” (відповідні спектри наведені на Рис.3.10 та Рис. 3.12). Отже, хоча додавання наночастинок срібла і не призводило до різких змін у випромінювальних властивостях берберину у цій спектральні області, дані зразки не є перспективними для подальших досліджень для фото- чи рентгенодинамічної терапії, оскільки не було зареєстровано ефективної генерації синглетного кисню.

3.4 Спектри випромінювання у системах

«Берберин + наночастинки срібла в буфері Tris-HCL»

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

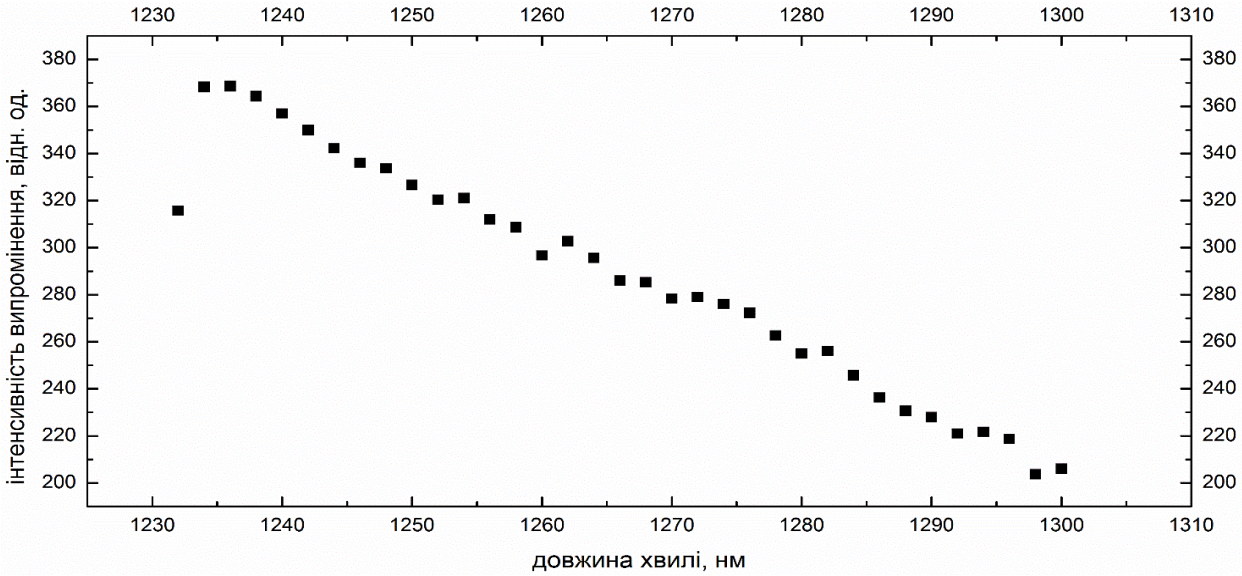


Рис. 3.15

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з водним розчином наночастинок срібла (0,025% за масою), вирощених на ДНК (0,05% за масою), розчиненим у 10 раз у дистильованій воді, у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

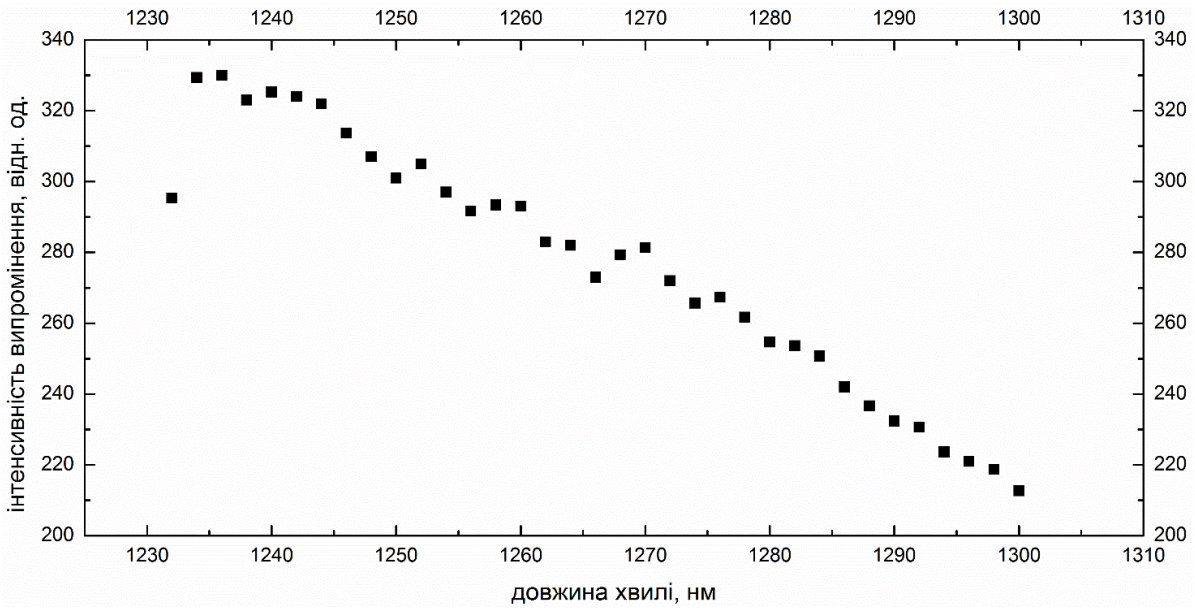


Рис.3.16

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з водним розчином наночастинок срібла (0,13% за масою), вирощених на РНК (0,05% за масою), розчиненим у 10 раз у дистильованій воді, у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”:

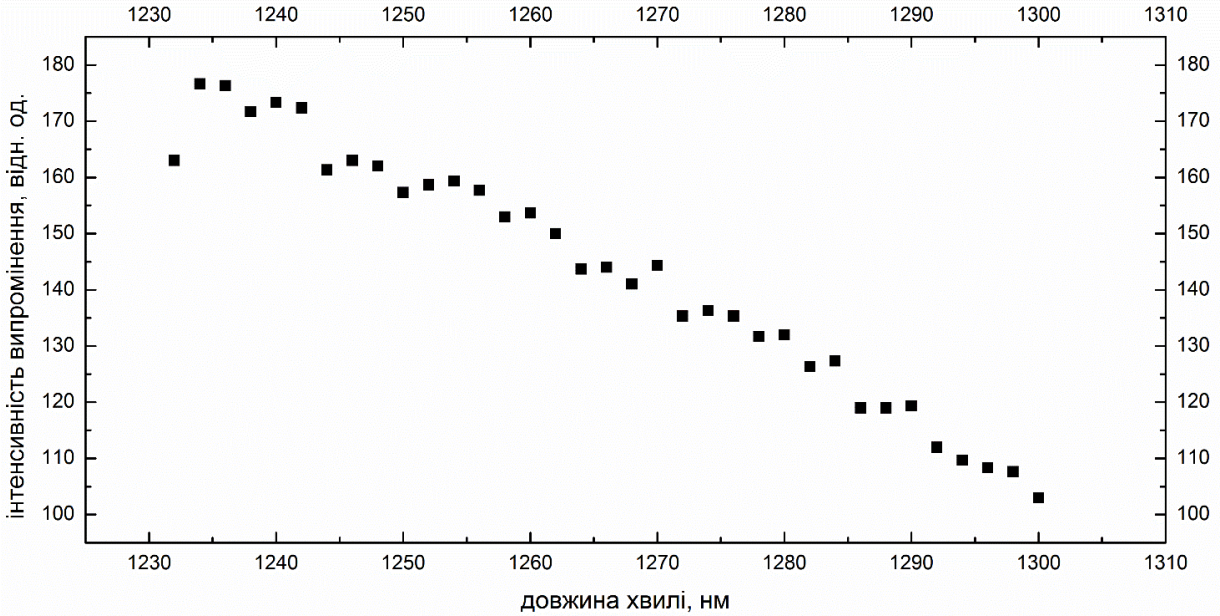


Рис. 3.17

Можна побачити, що на наведених вище спектрах немає явних піків випромінювання в області 1270 нм, характерного для синглетного кисню, а отже зразки систем «Берберин + наночастинки срібла, вирощені на РНК, в буфері Tris-HCL» не є ефективними його генераторами при опроміненні їх

світлом із довжиною хвилі 405 нм. Це можна сказати як про зразки, що містять такі наночастинки, так і про еталонний зразок системи “берберин (50 мкМ) у 50мМ буфері Tris-HCL (pH 7.2)”, на спектрі випромінювання якого не можна побачити максимуму, характерного для синглетного кисню.

3.5 Спектри випромінювання у системах

«Берберин + молекули ДНК у дистильованій воді»

Спектри випромінювання цих зразків досліджувались в області 1222-1300 нм, що також дає можливість спостерігати максимум, характерний для синглетного кисню у тих зразків, де його вдалось генерувати:

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з молекулами ДНК (0,02% за масою) у дистильованій воді”:

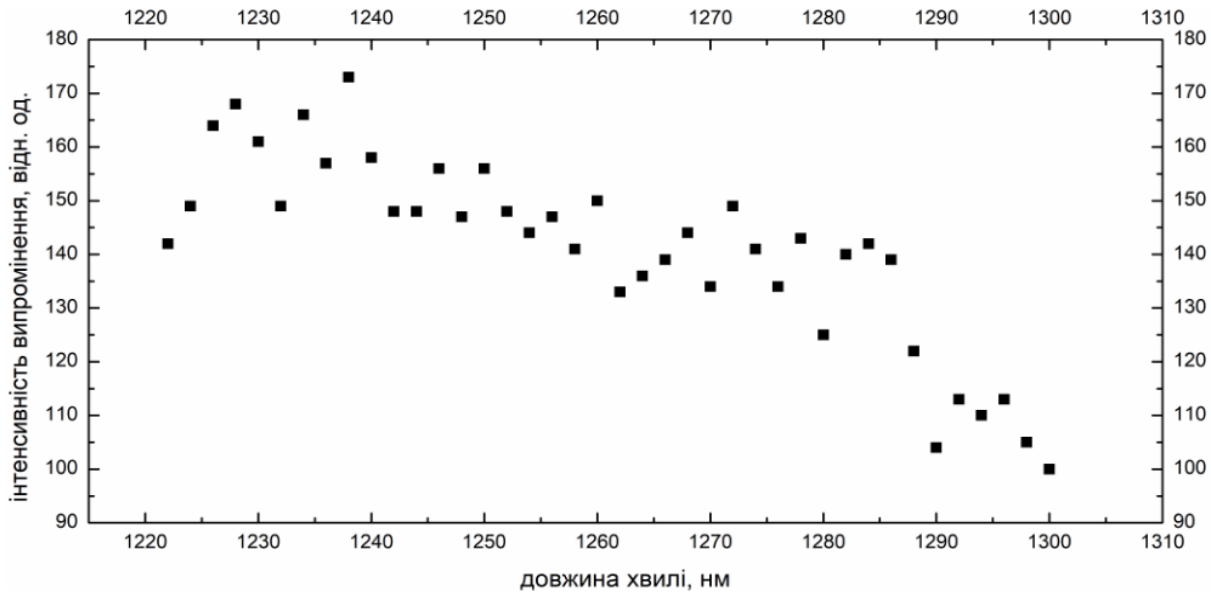


Рис. 3.18

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з молекулами ДНК (0,04% за масою) у дистильованій воді”:

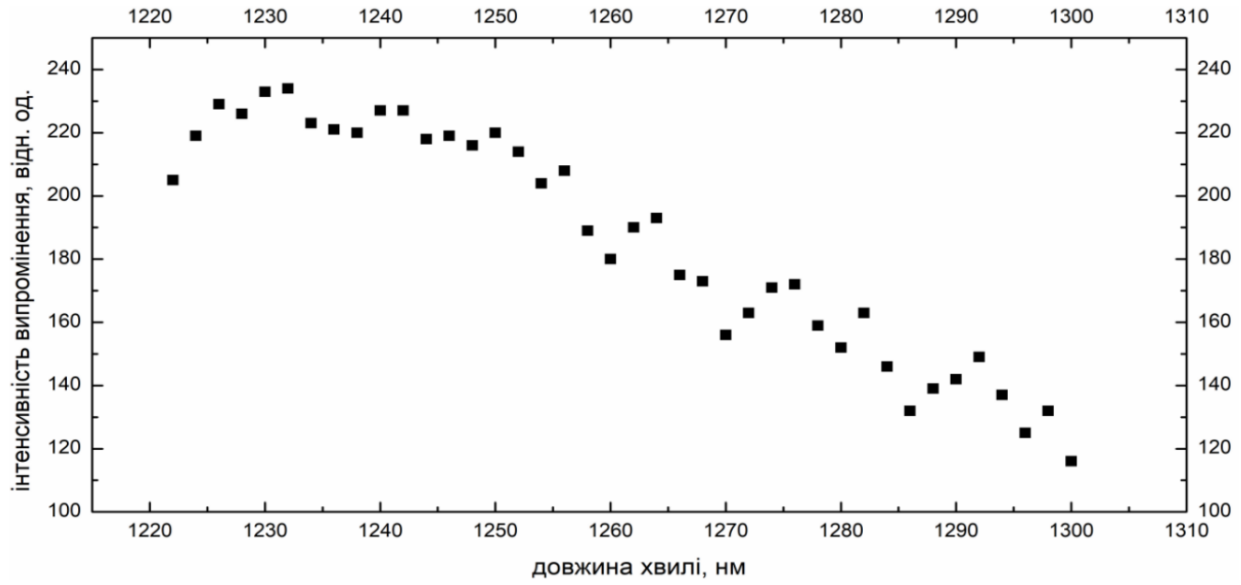


Рис.3.19

Спектр випромінення системи “берберин (50 мкМ) з молекулами низькомолекулярної ДНК (0,04% за масою) у дистильованій воді”:

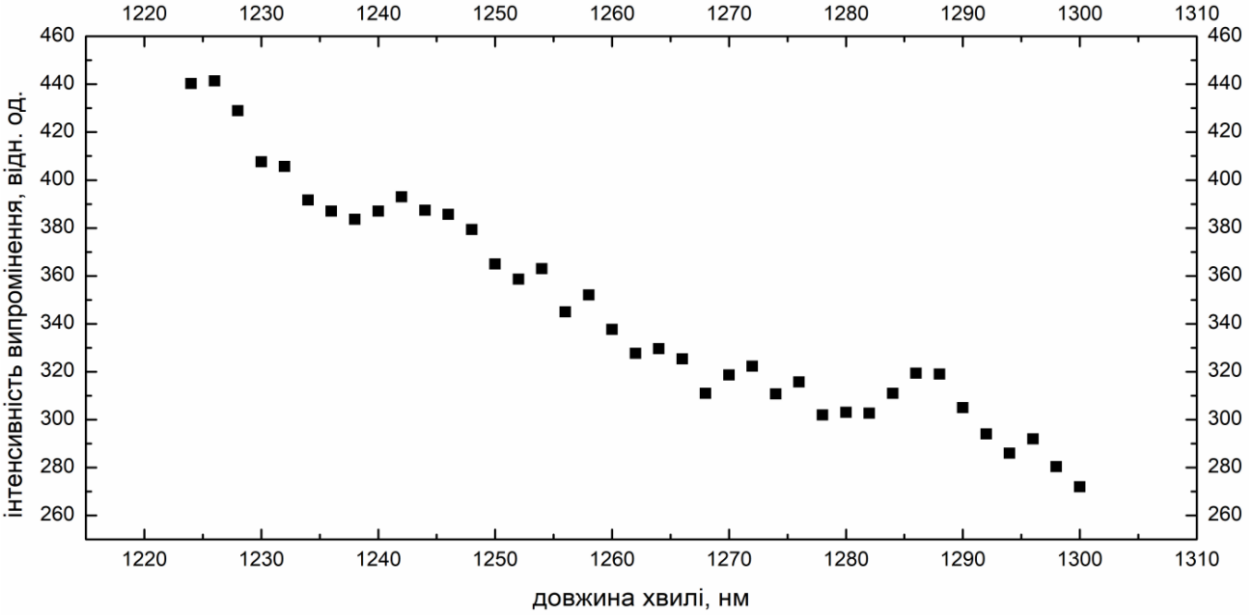


Рис. 3.20

Спектр випромінення системи “берберин (200 мкМ) з молекулами ДНК (0,08% за масою) у дистильованій воді”:

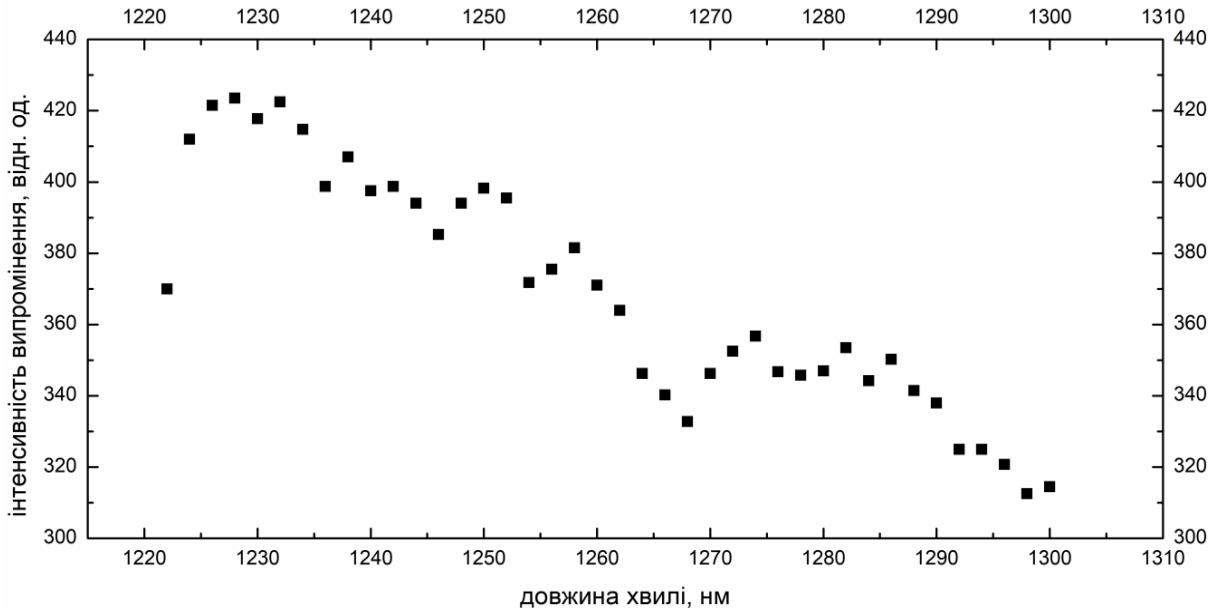


Рис. 3.21

Спектр випромінення системи “берберин (200 мкМ) з молекулами низькомолекулярної ДНК (0,04% за масою) у дистильованій воді”:

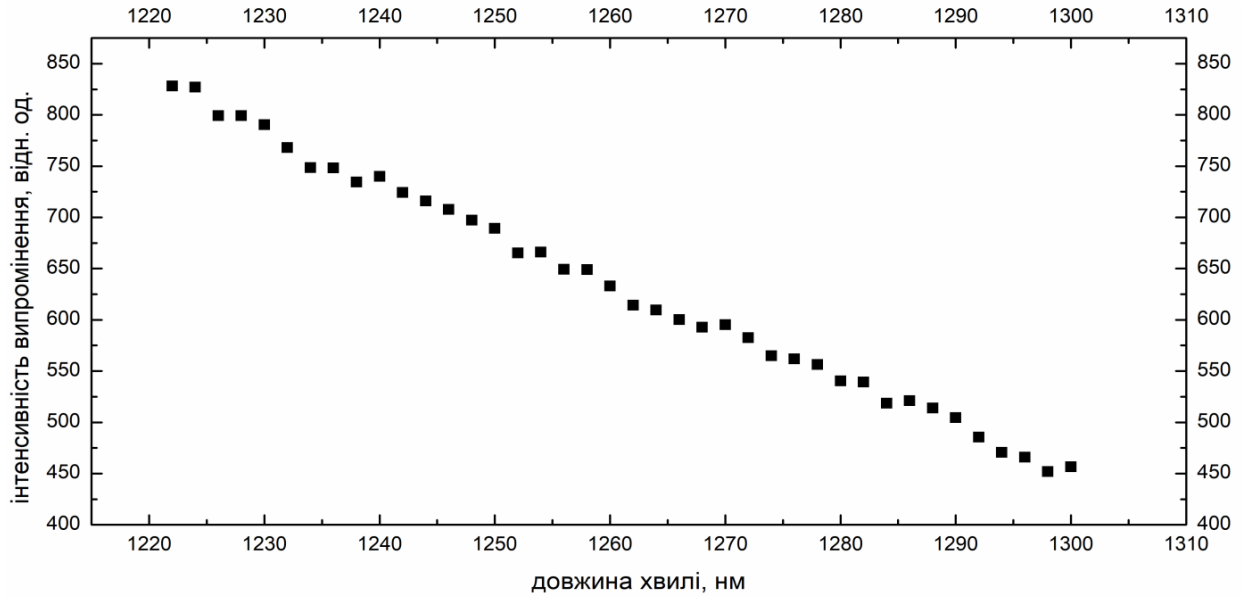


Рис. 3.22

Можна побачити, що на наведених вище спектрах немає явних характерних максимумів для випромінювання в області 1270 нм, а отже зразки систем «Берберин + молекули ДНК у дистильованій воді» при опроміненні їх

світлом із довжиною хвилі 405 нм не показали ефективної генерації синглетного кисню. Це можна сказати як про зразки, що містили ДНК у якості органічної матриці, так і про еталонний зразок, спектр якого наведений на Рис. 3.12. Окрім того, якщо порівняти “еталонний” спектр зі спектрами систем, що містили ДНК, можна побачити, що вони істотно відрізняються. Це свідчить про те, що додавання ДНК до системи “берберин у дистильованій воді” може вплинути на характеристики її випромінювання.

Отже, зі всіх досліджених зразків найменший вплив на ефективність генерації синглетного кисню показали наночастинки у системах “наночастинки оксиду гафнію - PS-PPO - хлорин e_6” у дистильованій воді та в буфері Tris-HCL, “наночастинки оксиду гафнію - хлорин e_6” у дистильованій воді та в буфері Tris-HCL.

IV.ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ВИСНОВКИ

1. Досліджено спектри випромінювання при кімнатній температурі (Т=293К) у ближній інфрачервоній зоні наступних систем при збудженні у видимій та ультрафіолетовій спектральних областях:

а) хлорин e_6 у дистильованій воді та у буфері Tris-HCL

б) наночастинки оксиду гафнію - PS-PPO - хлорин e_6 у дистильованій воді та у буфері Tris-HCL

в) наночастинки оксиду гафнію - хлорин e_6 у дистильованій воді та у буфері Tris-HCL

г) берберин у дистильованій воді та у буфері Tris-HCL

ґ) наночастинки срібла, вирощені на ДНК - берберин у дистильованій воді тау буфері Tris-HCL

д) наночастинки срібла, вирощені на РНК - берберин у дистильованій воді та в буфері Tris-HCL

2. Показано, що при збудженні у видимій та ультрафіолетовій частинах спетру в системах а), б), в) індукується випромінювання синглетного кисню в області 1270 нм.

3. Показано, що наночастинки оксиду гафнію не впливають на поглинання та флюоресценцію систем, куди вони входять і не знижують ефективність генерації синглетного кисню у дистильованій воді.

4. Найбільш перспективними для ФТД є системи, що містять оксид гафнію та хлорин e_6.

5. Система ДНК-наночастинка срібла-берберин, так само як і система ДНК-берберин виявились неефективними генераторами синглетного кисню і не можуть використовуватись ані у фотодинамічній, ані у рентгенодинамічній терапіях.

V.СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ящук В.М., Кудря В.Ю., Кравченко В.М., Лосицький М.Ю. Вступ до біофотоніки (Навчальний посібник для студентів фізичних факультетів вузів) - 149-176 с.

2. Ящук В.М., Кудря В.Ю., Шевченко С.Я., Вретік Л.О. Вступ до фотоніки органічних середовищ (Навчальний посібник для студентів фізичних факультетів вищіх навчальних закладів) - 63-68 с.

3. Kazutaka Hirakawa and Toru Hirano The Microenvironment of DNA Switches the Activity of Singlet Oxygen Generation Photosensitized by Berberine and Palmatine (Photochemistry and Photobiology) 2008, 1-6 p.

4. Kazutaka Hirakawa, Toru Hirano, Yoshinobu Nishimura, Tatsuo Arai, and Yoshio Nosaka Dynamics of Singlet Oxygen Generation by DNA-Binding Photosensitizers (The Journal of Physical Chemistry) 2012, 1-7 p.

5. Харченко Р.А. Модернізація стенду для вимірювання люмінесценції у ближній ІЧ області спектру та детектування синглетного кисню у спиртових та водних розчинах 2016, 6 - 26 с.

6. Losytscyy M.Y., Kharchenko R.A., Harahust Y.I., Virych P.A., Kutsevol N.V., Yashchuk V.M. Effect of chlorin e_6 molecular form on the induced singlet oxygen luminescence 2019, 3 p.

7. Акопов А.Л., Казаков Н.В., Русанов А.А., Карлсон А. Механизмы фотодинамического воздействия при лечении онкологических больных (Фотодинамическая терапия и фотодиагностика) 2015, 9 - 10 с.

8. Francis Wilkinson, W. Phillip Helman, Alberta B. Ross Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution (Journal of Physical and Chemical Reference Data) 1993, 114-117 p.