

кислорода в органических растворах, оказывает стимулирующее действие.

Кроме молекулярного кислорода в качестве акцептора оптического излучения ближней инфракрасной области спектра могут выступать также молекулы воды, характеризующиеся наличием выраженных точек экстремумов в указанной области с максимумами при $\lambda = 755; 973; 1200; 1443$ нм и минимумами – при $\lambda = 813; 1070; 1266$ нм.

ОСОБЕННОСТИ ФОТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В МОЛЕКУЛАХ БИЛИРУБИНА С УЧАСТИЕМ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМАХ ЕГО ВОЗБУЖДЕНИЯ

**Плавский В.Ю., Третьякова А.И., Плавская Л.Г., Микулич А.В.,
Сташевский А.С., Грабчиков А.С., Ходасевич И.А., Орлович В.А.**

*Институт физики НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, v.plavskii@ifanbel.bas-net.by*

Исследование фотохимических процессов в молекулах *Z,Z*-билирубина IX α представляет не только чисто академический интерес, но и имеет высокую практическую значимость в силу их определяющей роли в снижении уровня билирубина при проведении фототерапии у новорожденных детей с синдромом гипербилирубинемии (желтухи). Принято считать, что воздействие света в полосу поглощения пигмента индуцирует протекание трех типов реакций: (а) конфигурационной *цис-транс*-изомеризации; (б) структурной циклизации с образованием водорастворимого люмирубина; (в) окислительных реакций, сопровождающихся накоплением бесцветных продуктов на основе моно- и дипиррольных фрагментов, а также биливердина, образующегося в результате окисления метиленового мостика и характеризующегося протяженной полосой поглощения с максимумом около $\lambda = 660\text{--}750$ нм (в зависимости от типа растворителя). Обычно полагают, что ведущая роль в процессах аутосенсibilизированной фотодеструкции билирубина принадлежит синглетному кислороду, генерацию которого, однако не удавалось зарегистрировать оптическими методами.

В настоящей работе впервые получены данные, свидетельствующие о сенсibilизированной *Z,Z*-билирубином IX α генерации синглетного кислорода в органических растворителях (четырёххлористый углерод), а также в водных растворах в составе комплекса с сывороточным альбу-

мином человека (САЧ). Выполнены также исследования закономерностей фотохимических реакций в молекуле *Z,Z*-билирубина IX α с участием синглетного кислорода при различных схемах его возбуждения: (а) при воздействии излучения светодиодного источника в спектральном диапазоне, соответствующем длинноволновой полосе поглощения пигмента (сенсibilизированная генерация $^1\text{O}_2$); при прямом возбуждении растворенного молекулярного кислорода путем воздействия мощного лазерного излучения в полосу его поглощения в ИК-области спектра (лазер на кристаллах Nd:YVO $_4$ с диодной накачкой, непрерывный режим, $\lambda = 1064$ нм, мощность излучения 1–3 Вт). В последнем случае исключалось прямое возбуждение молекул билирубина.

Исследования, проведенные с использованием разработанного в Институте физики НАН Беларуси под руководством проф. Б.М. Джагарова высокочувствительного лазерного флуорометра (возбуждение осуществлялось на $\lambda_{\text{возб}} = 353$ нм, регистрация люминесценции на $\lambda_{\text{рег}} = 1270$ нм), позволили впервые обнаружить люминесценцию синглетного кислорода, сенсibilизированную билирубином. Как и следовало ожидать (учитывая крайне низкую эффективность $S_1 \rightarrow T_1$ -перехода для билирубина) квантовый выход образования $^1\text{O}_2$ не превышает $\phi_{\Delta} = 0,01$. По этой причине и квантовый выход фотоокислительных процессов при воздействии излучения в длинноволновую полосу поглощения билирубина $\phi_{\text{фо}} < 0,01$. Вместе с тем следует отметить, что при воздействии излучения синезеленой области вклад в фотодеструкцию билирубина наряду с $^1\text{O}_2$ вносят и другие химически активные интермедиаты, вклад которых в суммарный фотохимический процесс может превышать вклад реакций $^1\text{O}_2$.

Для селективного образования синглетного кислорода и изучения (обусловленных взаимодействием с ним) фотохимических реакций представляет интерес его генерация путем прямого возбуждения растворенного в среде молекулярного кислорода. Проведенные исследования показали, что, несмотря на малое значение коэффициента молярной экстинкции O_2 в области 1064 нм ($\epsilon \sim 10^{-4} \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), воздействие лазерного излучения плотностью мощности 20–30 Вт/см 2 (время воздействия $t = 30$ мин) приводит к изменению спектров поглощения и флуоресценции билирубина в органических и водном растворителях. Эффект максимален при использовании растворителей (CCl $_4$), характеризующихся большим временем жизни синглетного кислорода (рис. 1). Фотохимические реакции фактически предотвращаются при добавлении в облучаемый раствор тушителей синглетного кислорода (азид натрия в водном растворе). Фотодеструкция билирубина не наблюдается также при облучении билирубин-альбуминового комплекса (соотношение компонент 1:1),

в котором билирубин глубоко погружен в пространственную глобулу макромолекулы белка (рис. 2). Данный факт можно трактовать как наличие эффекта «белковой защиты» за счет экранирования молекулы билирубина аминокислотами САЧ (гистидином, метионином и др.), характеризующимися высокой константой скорости взаимодействия с синглетным кислородом.

Проведенные исследования показали, что в отличие от химических реакций, инициированных пероксидом водорода (при его добавлении в раствор), и приводящими к разрушению тетрапиррольного бихромофора до монопиррольных бесцветных продуктов, взаимодействие билирубина с синглетным кислородом сопровождается образованием циклобилирубина (люмирубина) и его фотопродуктов, что подтверждается появлением нового флуоресцирующего соединения с полосой поглощения в области $\lambda > 530$ нм с максимумом при $\lambda_{\text{макс}} = 625$ нм (рисунок 1).

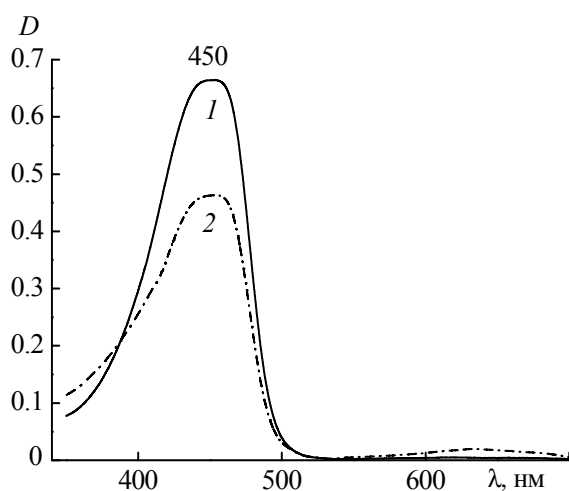


Рисунок 1 – Спектры поглощения билирубина в CCl_4 до (1) и после (2) воздействия излучения $\lambda = 1064$ нм

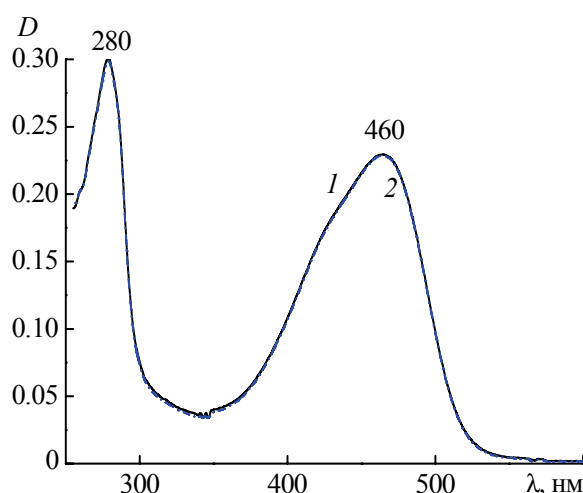


Рисунок 2 – Спектры поглощения комплекса билирубин-САЧ до (1) и после (2) воздействия излучения $\lambda = 1064$ нм

Проведено сравнение фотопродуктов билирубина, получаемых при прямом возбуждении синглетного кислорода и его последующем взаимодействии с молекулами билирубина, а также при воздействии излучения в пределах полосы поглощения билирубина, сопровождающиеся реакциями *цис-транс*-изомеризации, циклизации и фотоокисления. В отличие от процессов, протекающих при прямом возбуждении синглетного кислорода, при воздействии излучения в полосу поглощения билирубина указанные реакции протекают как в изотропных растворителях (органи-

ческих и водных), так и в комплексе билирубина с альбумином. На основании близости спектральных характеристик указанных фотопродуктов сделан вывод, что и при прямом возбуждении билирубина синглетный кислород является одним из интермедиатов, участвующим в процессе фотодеструкции молекул билирубина.

Таким образом, метод прямого селективного возбуждения молекулярного кислорода в ИК-полосу его поглощения является информативным способом изучения особенностей фотохимических реакций в молекулах, протекающих с участием указанной реакционной формы кислорода.

ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ ЧЕРЕЗ ФС1 ПРИ ТЕПЛОВИМ ВОЗДЕЙСТВИИ. РОЛЬ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ ФЕРРЕДОКСИНА

Пшибытко Н.Л.

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь, pshybytko@ibp.org.by*

Световая стадия фотосинтеза характеризуется множественностью путей электронного транспорта. Классический нециклический электронный транспорт обеспечивается последовательным функционированием фотосистемы 2 (ФС2) и ФС1. К альтернативным электронным потокам можно отнести циклический электронный транспорт вокруг ФС1, включающий отток электронов от ферредоксина или НАДФН/НАДН к пластохиноновому пулу и дальнейший поток электронов через цитохром b_6/f комплекс и пластоцианин к P700. Ферредоксин-зависимый светозависимый транспорт электронов катализируется Фд:НАДФ-оксидоредуктазой, Фд:пластохинон-оксидоредуктазой и регулируется мембранными белками тилакоидов PGR5 и PGRL1. Кроме того, Фд:НАДФ-оксидоредуктаза может поставлять электроны для восстановления пластохинонов в темноте через НАД(Ф)Н-дегидрогеназу. Поскольку альтернативные пути транспорта электронов, катализируемые ФС1, могут играть существенную роль в адаптации фотосинтетического аппарата к стрессовым условиям, цель нашей работы состояла в определении вклада различных электронных потоков в теплоиндуцированную модификацию функционирования фотосинтетического аппарата и выявлении регулирующих данный процесс механизмов.