

УСПЕХИ ХИМИИ

ВЫПУСК 5

МАЙ — 1982

ТОМ LI

МОСКВА

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1932 ГОДУ
ВЫХОДИТ 12 РАЗ В ГОД

УДК 546.21 : 577.1

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИНГЛЕТНОГО
МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА И ЗНАЧЕНИЕ ЕГО
В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Шинкаренко Н. В., Алексковский В. Б.

Описаны типичные химические реакции синглетного молекулярного кислорода с органическими веществами, а также разрушающее воздействие его на биологические системы (фотодинамический эффект). Показано участие синглетного кислорода в канцерогенезе. Обсужден новый (люминесцентный) метод обнаружения синглетного кислорода в растворе. Отмечена роль синглетного молекулярного кислорода как окислителя в загрязненной городской атмосфере.

Библиография — 232 ссылки.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Химические реакции синглетного кислорода с органическими субстратами	713
II. Биологическое значение синглетного кислорода	718
III. Синглетный кислород в загрязненной городской атмосфере	730

I. ХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА
С ОРГАНИЧЕСКИМИ СУБСТРАТАМИ

У молекулы кислорода имеются три возможных низших электронных состояния, которые различаются между собою заселенностью наиболее высоколежащих молекулярных орбиталей (рис. 1). Первое состояние ($^3\Sigma$) обладает наиболее низкой энергией, так как два электрона на верхних орбиталах расположены в различных областях пространства и, следовательно, взаимное отталкивание электронов в этом случае минимально. Второе состояние ($^1\Delta$) обладает более высокой энергией, так как двум электронам на одной и той же орбитали π^* ($2p_y$) соответствует большая величина межэлектронного отталкивания. Энергия третьего состояния ($^1\Sigma$) еще выше, так как для его осуществления необходимо затратить довольно большую энергию, чтобы перевернуть спин электрона, находящегося на одной из орбиталей π^* .

Первое состояние является основным триплетным состоянием, а два других — синглетными возбужденными состояниями. Синглетное состояние $^1\Delta$ лежит на 22,5, а синглетное состояние $^1\Sigma$ — на 37,5 ккал/моль выше основного состояния [1]. Синглетный молекулярный кислород вообще обозначают 1O_2 в отличие от обычного кислорода, который обозначают 3O_2 (или просто O_2). Как видно из рис. 1, кислород в основном состоянии, или «триплетный» кислород, имеет два неспаренных электрона; он является стабильным бирадикалом вида $\cdot O-O\cdot$ и его химические реакции относятся к свободно-радикальному типу [2]. В качестве

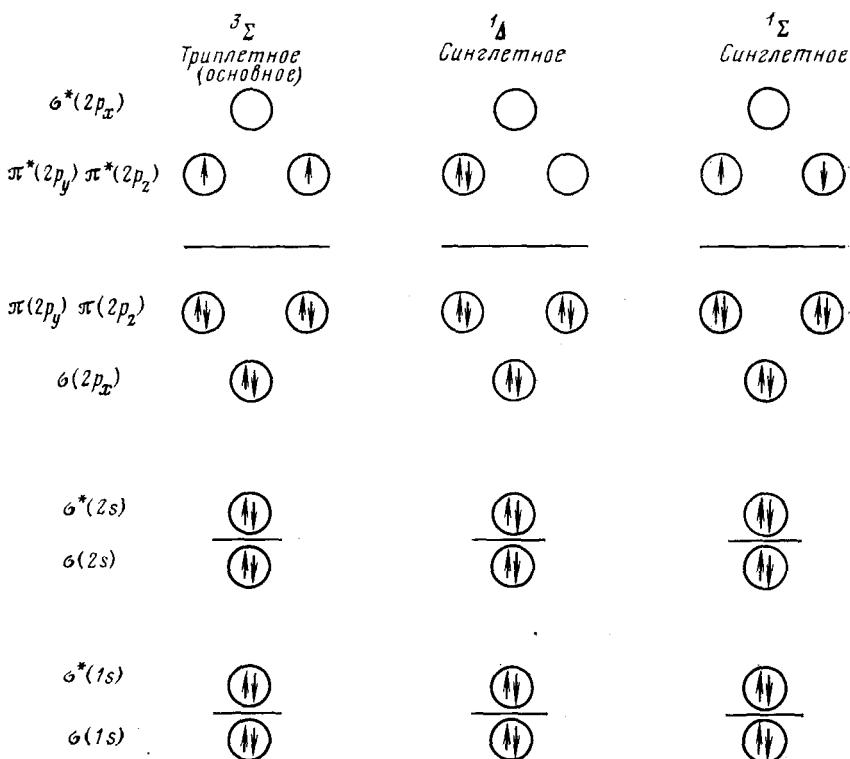
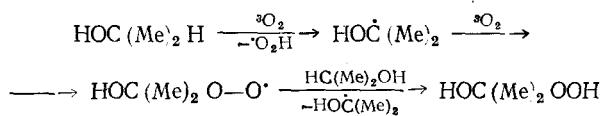


Рис. 1. Возможные электронные состояния в молекуле кислорода

примера можно привести радикальное цепное автоокисление изопропанола:

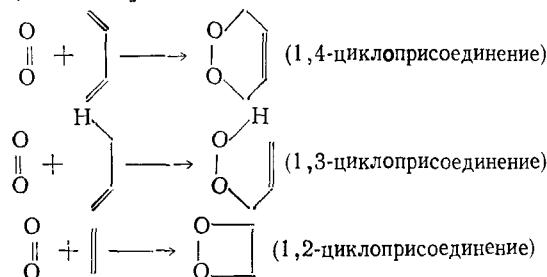


Сначала предполагалось [3–6], что $^1\Sigma$ -состояние должно проявлять подобную реакционную способность. Однако в работе [7] было установлено, что состояние $^1\Sigma$ в растворе релаксирует до состояния $^1\Delta$ за время $\sim 10^{-10}$ с, поэтому авторы работ [8, 9] сделали вывод, что реакции O_2 ($^1\Sigma$) не могут быть обнаружены. Дополнительные экспериментальные данные, подтверждающие этот вывод, получены в работе [10]; автор которой, используя широкий ряд фотосенсибилизаторов для изучения реакций синглетного кислорода, установил, что распределение продуктов реакции не изменяется, если энергия триплетного уровня сенсибилизатора ниже энергии, необходимой для образования O_2 ($^1\Sigma$). Кроме того, O_2 ($^1\Sigma$) не может, согласно теории, вступать в реакцию согласованного присоединения [11], а реакции синглетного кислорода являются согласованными [12–14]. Поэтому ниже будут рассмотрены только реакции O_2 ($^1\Delta$)-формы.

Синглетный кислород в состоянии $^1\Delta$ чрезвычайно реакционноспособен, так как помимо того, что он обладает избытком энергии, время его жизни аномально высоко (2700 с в газовой фазе при низком давлении и $\sim 10^{-5}$ с в растворе) [15, 16]. Молекулу синглетного кислорода в состоянии $^1\Delta$ можно записать в виде $\text{O}=\text{O}$ (см. рис. 1), т. е. по электронной структуре она подобна этилену и в реакциях выступает в роли диенофила [17–19].

Таким образом, химические свойства синглетного кислорода в состоянии $^1\Delta$ совершенно иные, чем свойства кислорода в основном состоянии. Например, характерными реакциями O_2 ($^1\Delta$) являются реакции 1,4-цикlopрисоединения типа Дильса — Альдера и 1,3- и 1,2-цикlopри-

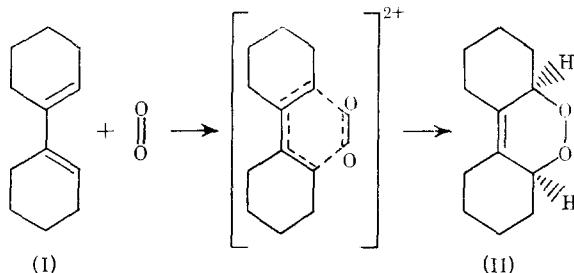
соединения [11, 20—28]:



Эти три типа реакций обеспечивают простые методы введения перекисной связи в органические субстраты и имеют большое значение для синтеза новых соединений. Для каждого вида циклоприсоединения имеется множество примеров; ниже приведены лишь некоторые из них. Более подробные данные по химии синглетного кислорода можно найти в обзорах [10, 11, 17, 21, 22, 28—31].

1. 1,4-Циклоприсоединение (эндоперекисный путь)

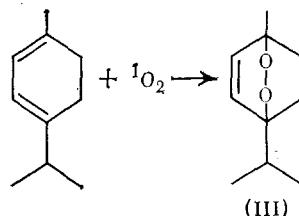
Согласованный характер реакции циклоприсоединения к диенам обнаружен при исследовании присоединения кислорода к *цис*-конформации 1,1'-бициклогексенила (I). Реакция дает исключительно *цис*-перекись (II) [21]:



Присоединение синглетного кислорода идет через образование шестичленного циклического переходного состояния, аналогично реакции Дильса — Альдера [10, 17].

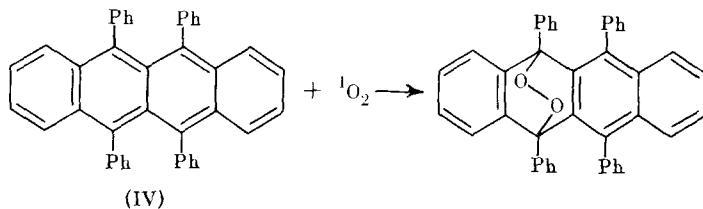
При исследовании воздействия температуры на скорость реакции синглетного кислорода с рядом диенов оказалось, что энергии активации изменяются от нуля для более реакционноспособных диенов до ~ 6 ккал/моль для сравнительно инертных диенов [32]. Согласованный характер реакции и низкое значение энергии активации процесса присоединения синглетного кислорода к диенам находятся в согласии с теоретическими результатами [11].

Реакции присоединения $^1\text{O}_2$ к диенам посвящено большое количество работ [21, 27]. Еще в первой половине века была выделена из хеноподиевого масла эндоперекись (III) (аскаридол), которая, как потом выяснилось, образуется в листьях растений при сенсибилизированном хлорофиллом окислении α -терпинена [33, 34]:



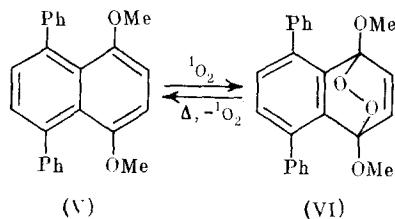
В лаборатории эта реакция была открыта в связи с фундаментальным исследованием по фотохимическому превращению стероидов в витамин D [35], где было показано, что эргостерол дает эндо-перекись при окис-

лении, сенсибилизированном красителем. Позже были проведены широкие исследования по фотоокислению стероидальных диенов [21]. Было обнаружено, что ароматические углеводороды, например рубрен (IV), в подобных условиях превращаются в эндо-перекиси [36]:



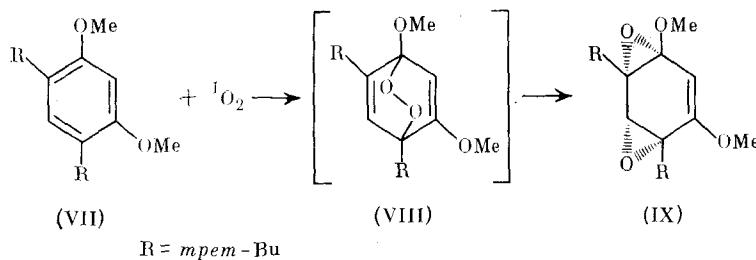
Затем появилось большое число работ по фотоокислению полициклических ароматических и гетероароматических соединений [21, 27, 37]. Оказалось, что 9,10-дизамещенные антрацены и большие полициклические ароматические соединения реагируют с синглетным кислородом почти количественно [21, 27, 37, 38]. Следует отметить, что при фотоокислении углеводородов ряда аценов не требуется применять специальные сенсибилизаторы-красители, так как ацены сами способны быть сенсибилизаторами; то же относится к рубрену.

Активированные производные нафтилина и бензола также вступают в 1,4-циклоприсоединение с синглетным кислородом; например, соединение (V) можно превратить в эндо-перекись (VI) [39]:

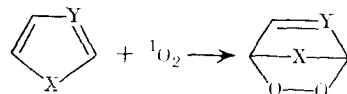


Ряд ди-, три-, тетра-, гекса- и октаметилированных нафталинов также был превращен в эндо-перекиси под действием $^1\text{O}_2$ [40, 41].

Показано, что производное резорцина (VII) превращается в эндо-перекись (VIII) при взаимодействии с ${}^1\text{O}_2$; в результате получается ди-эпоксид (IX) [42]:



Очень большой ряд гетероциклических соединений, особенно пятичленные — такие как фураны, тиофены, пирролы, оксазолы, тиазолы и имидазолы, вступают в 1,4-цикlopрисоединение с синглетным кислородом [21, 27].



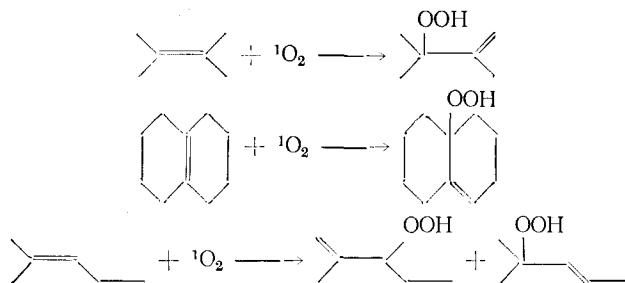
X = O, S, NH, NR; Y = CH, N

Эндоперекисные продукты обычно нестабильны и превращаются в другие соединения или сольволизуются.

2. 1,3-Циклоприсоединение (аллильный гидроперекисный путь)

В реакциях этого типа синглетный кислород присоединяется к олефинам, образуя при этом аллильные гидроперекиси, аналогично реакции Альдера. Механизм 1,3-циклоприсоединения пока точно не установлен; тем не менее этот процесс имеет большое синтетическое значение, особенно в ряду терпенов, которые являются главными составными частями различных эфирных масел, выделяемых из цветов, плодов, листьев и других частей растений [28]. Восстановление аллильных гидроперекисей в аллильные спирты можно осуществлять в промышленных масштабах для получения синтетических душистых веществ.

1,3-Циклоприсоединению посвящено много работ [10, 15, 17, 22, 30, 43—49]. Некоторые примеры реакций этого типа приведены ниже:



Экспериментальные наблюдения, касающиеся таких реакций, можно суммировать следующим образом [11]:

1) кислород всегда вводится на ту же сторону молекулы, с которой удаляется водород, а двойная связь всегда перемещается [10, 17, 22, 29, 30, 50];

2) реакция не может быть ингибирана путем добавления радикальных ловушек [50];

3) для замещенных олефинов отношение вторичных гидроперекисей к третичным составляет приблизительно 1:1 [10, 17, 22, 29, 30, 51];

4) группы заместителей, которые экранируют двойную связь, предотвращают атаку синглетного кислорода [52];

5) при окислении оптически активных олефинов не происходит потери оптической активности [50, 53]. Кроме того, сравнение фотоокисления *цис*-*транс*-олеиновых пар показывает, что в течение реакции не происходит *цис*-*транс*-изомеризации [51];

6) реакционная способность олефинов усиливается при введении алкильных заместителей (множитель ~ 10 на одну CH_3 -группу) [19];

7) для большинства олефинов природа растворителя очень мало влияет на распределение продуктов или на скорость реакции с синглетным кислородом [10, 17, 22, 29, 30];

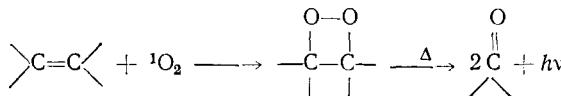
8) имеется хорошая корреляция между относительными скоростями реакции олефинов с перокислами и синглетным кислородом [19];

9) между скоростями реакций различных замещенных олефинов с синглетным кислородом и со свободными радикалами существует большая разница. В случае синглетного кислорода относительная реакционная способность в зависимости от структуры олефина изменяется на четыре порядка, тогда как в случае трифторметильных радикалов — всего в два раза [19].

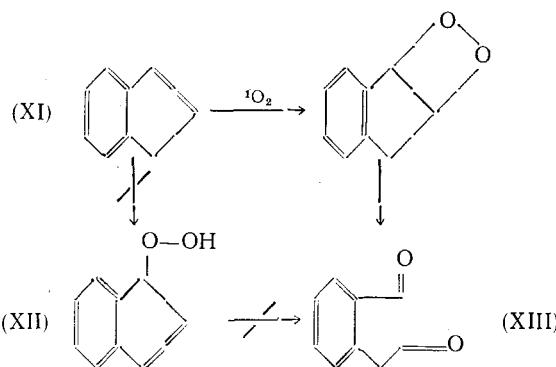
3. 1,2-Циклоприсоединение (1,2-диоксстановый путь)

Одно из самых интересных достижений в химии синглетного кислорода — открытие способа 1,2-циклоприсоединения синглетного кислорода к олефинам, приводящего к образованию 1,2-диоксстанов «высокой энергии», которые, испуская свет, расщепляются на соответствующие карбэ-

нильные продукты [22]:



В 1968 г. появилось сообщение о первом успешном приготовлении стабильного диоксетана [54, 55]. Этот факт имел большое значение, так как ранее предполагалось, что карбонильные фрагменты, которые часто появляются в реакциях фотоокисления, возникают от вторичных реакций первоначально образованных нестабильных аллильных гидроперекисей [17], а не от расщепления промежуточного диоксетана. В том же году авторы работы [56], а затем и автор работы [57] выдвинули предположение, что диоксетан является одним из трех возможных промежуточных продуктов в реакции синглетного кислорода с енамиинами. Роль диоксетана как промежуточного продукта в реакциях синглетного кислорода с богатыми электронами олефинами окончательно установлена в работе [58], где показано, что диальдегид (XIII), единственный продукт сенсибилизированного фотоокисления индена (XI), возникает не вследствие перестройки нестабильной аллильной гидроперекиси (XII) [58]:



Имеется много примеров быстро протекающих реакций синглетного кислорода с олефинами, несмотря на то что последние не имеют способных к отщеплению водородных атомов в аллильных позициях [59], что может указывать на образование диоксетанов.

Активированные азотом олефины, такие как енамины, *бис*-акрилидилены [60, 61], индолы [62, 63] и дипиррilmетилены [64], вступают в 1,2-цикlopрисоединение с ${}^1\text{O}_2$. Алкилтиозаместители с таким же успехом активируют этиленовую связь в отношении окисления синглетным кислородом. Например, тетратиоэтилены, которые чрезвычайно устойчивы в отношении обычных электрофильных и диенофильных реагентов, хорошо присоединяют ${}^1\text{O}_2$, давая диоксетаны [65, 66]. Даже монотиоэтилены испытывают 1,2-цикlopрисоединение [67], а не атаку атома серы синглетным кислородом [68, 69].

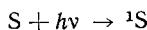
II. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА

1. Фотодинамический эффект

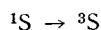
В результате многочисленных исследований установлено [70–79], что практически все виды биологических систем от простейших одноклеточных организмов до многоклеточных растений и животных могут быть повреждены при одновременном действии следующих трех факторов: света, кислорода и фотосенсибилизатора (обычно это краситель); это явление впервые было открыто в 1900 г. и названо фотодинамическим эффектом [71, 72]. Фотодинамический эффект может приводить к повреждению вирусов, грибов, водорослей, простейших одноклеточных и высших организмов, вызывая мутации, дефекты мембран, нарушение

обмена и т. д. (вплоть до летального исхода). Этому эффекту посвящены обзоры [70, 73—81].¹

В основе фотодинамического эффекта лежит фотосенсибилизованное окисление субстрата, в процессе которого молекула сенсибилизатора S , поглощая квант света, переходит в возбужденное синглетное состояние 1S :

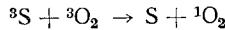


Из состояния 1S сенсибилизатор может перейти в более низкое по энергии, но более долгоживущее триплетное возбужденное состояние 3S :



которое и участвует в большинстве фотохимических и фотофизических процессов. Для сенсибилизаторов в триплетном состоянии обнаружены два основных типа реакций [17, 30]. В реакциях типа I сенсибилизатор взаимодействует непосредственно с субстратом с отрывом атома водорода или переносом электрона, что приводит к окислению субстрата и восстановлению сенсибилизатора [30]. В реакциях типа II триплетный сенсибилизатор взаимодействует с кислородом.

Согласно общепринятым в настоящее время механизму Каутского [82], при взаимодействии сенсибилизатора в триплетном состоянии с кислородом в основном состоянии происходит перенос энергии от сенсибилизатора к кислороду, в результате чего образуется синглетный кислород 1O_2 :



Образующийся синглетный кислород затем атакует субстрат; в биологических системах такими субстратами являются, например, некоторые аминокислотные остатки в белках, основания в нуклеиновых кислотах, липиды в мембранах. Константы скорости процессов типа I составляют величину $\leq 10^7$ л/моль·с, тогда как константы скорости процессов типа II на два порядка больше и составляют $1 \cdot 10^9$ л/моль·с [79]. В данной статье будут рассмотрены только процессы типа II².

Круг возможных фотосенсибилизаторов весьма широк; это красители (бенгальская роза, метиленовый голубой, акридины и т. д.), природные пигменты (хлорофилл, гематопорфирин, флавины и т. д.), ароматические углеводороды (некоторые антрацены, рубрен и т. д.). Основное условие пригодности соединения в качестве сенсибилизатора для рассматриваемых реакций состоит в том, чтобы энергия его триплетного состояния была не ниже 22,5 ккал/моль, т. е. энергии, необходимой для перевода молекулы кислорода в синглетное состояние.

Следует отметить, что многие лекарства, такие как антибиотики, фенотиазины и сульфонамиды, являются фотосенсибилизаторами и, таким образом, могут вызывать фотодинамические повреждения в организме человека. Например, обнаружено [84], что антибиотики тетрациклин, окситетрациклин и гризофульвии вызывают болезненную чувствительность кожи человека к свету.

¹ В работе [80] на стр. 137 приведено (по-видимому, случайно) ошибочное время жизни $O_2(^1\Delta)$; в настоящее время для времени жизни $O_2(^1\Delta)$ общепринято значение, равное 2700 с (т. е. 45 мин.).

² Авторы работы [83] исследовали сенсибилизированные фотопрекции дегидрирования на модельных органических системах с точки зрения того, каков механизм фотодинамического дегидрирования изученных ими субстратов (ионол, фенотиазин, дифениламин): обусловлено ли оно синглетным молекулярным кислородом, или происходит вследствие прямого взаимодействия сенсибилизатора в триплетном возбужденном состоянии с субстратом с последующим дегидрированием кислородом восстановленного сенсибилизатора (механизм с переносом электрона авторы [84] исключают, поскольку он предполагает разрушение сенсибилизатора, что не подтверждается экспериментально). В качестве сенсибилизаторов использовались тетрапиррольные пигменты (хлорофилл, метилхлорофилл, фкофитин и др.). Авторы установили, что именно молекулярный кислород в возбужденном синглетном состоянии — тот активный агент, который осуществляет дегидрирование использованных ими субстратов.

а) Защита организмов от разрушающего действия фотодинамического эффекта

В конце шестидесятых годов было установлено, что каротиноиды могут обеспечивать защиту организмов от разрушающего действия фотодинамического эффекта [85]. На модельных системах показано [86], что окисление субстрата синглетным кислородом эффективно ингибируется β -каротином.

Предположение о том, что каротиноиды служат для защиты фотосинтезирующих систем от фотодинамического эффекта (при сенсибилизации их собственным хлорофиллом) было выдвинуто еще в 1959 г. на основании экспериментов с бескаротиноидными мутантами фотосинтезирующих бактерий [87]. Было обнаружено, что эти мутантные бактерии быстро уничтожаются в присутствии света и кислорода при сенсибилизации эндогенным хлорофиллом бактерий, тогда как нормальные бактерии, содержащие каротиноиды, совершенно стабильны в этих условиях. Не имеющие каротиноидов клетки, полученные выращиванием в присутствии дифениламина, ведут себя подобно бескаротиноидным мутантам [88].

Эксперименты по защитному действию каротиноидов проводили и на животных. Так, мышам вводили гематопорфицин при добавлении и без добавления β -каротина перед выдержкой на свету. Оказалось, что β -каротин обеспечивает существенную защиту от фотодинамического эффекта [89].

Эти результаты привели к выводу о том, что разрушающим агентом в фотодинамическом эффекте является синглетный кислород и что β -каротин защищает живые организмы от фотодинамического повреждения путем дезактивации («тушения») синглетного кислорода. Эта дезактивация происходит посредством переноса избыточной энергии возбужденного синглетного кислорода β -каротину, в результате чего образуется кислород в основном состоянии и β -каротин в возбужденном триплетном состоянии [22, 86, 90]:



Далее было обнаружено, что тушение идет эффективно при использовании каротинов, имеющих девять или более сопряженных двойных связей, тогда как тушение каротинами, имеющими семь или менее двойных связей, протекает неэффективно или не идет совсем [91].

Другим эндогенным тушителем синглетного кислорода является α -токоферол. Высокая эффективность тушения $^1\text{O}_2$ α -токоферолом привела многих исследователей к выводу, что биологическая роль этого соединения заключается в защите липидных компонентов биологических мембран от окисления синглетным кислородом [92—99] (см. также стр. 723, 729). Установлено, что имеется корреляция между активностью α -, β -, γ - и δ -токоферолов в качестве витамина Е и эффективностью тушения ими синглетного кислорода [92, 93].

Существуют и экзогенные тушители синглетного кислорода, например некоторые комплексы никеля, которые значительно более стабильны во времени, чем каротины, так как последние постепенно расходуются в реакции с $^1\text{O}_2$ [100]. Эти комплексы можно получить растворимыми либо в воде, либо в липидах. Очень эффективным тушителем является 1,4-диазабицикло[2,2,2]октан (ДАБЦО). Однако оказалось, что это соединение является также эффективной ловушкой гидроксильных радикалов ($k \sim 2.5 \cdot 10^9$ моль $^{-1}$ · с $^{-1}$) [101]. Азид натрия также является эффективным тушителем, хорошо растворимым в воде. (О тушителях синглетного кислорода см. также ниже, стр. 729.)

Синглетный кислород может быть дезактивирован не только тушителем, но также химической ловушкой (акцептором $^1\text{O}_2$); такая дезактивация дает соответствующие продукты окисления в реакциях циклоприсоединения $^1\text{O}_2$. При этом ловушка должна удовлетворять следующим критериям [11, 102]: достаточно большая скорость реакции с $^1\text{O}_2$,

специфичность по отношению к $^1\text{O}_2$, отсутствие усложняющих побочных реакций и легкость анализа продуктов. Кроме того, ловушка не должна участвовать в генерации $^1\text{O}_2$.

В биологии широко используются в качестве ловушек фураны; однако, как отмечает автор работы [100], в действительности они не являются специфическими, поскольку многие другие окислители, помимо синглетного кислорода, окисляют фураны до дикарбонильных соединений. Более специфическими являются ароматические углеводороды, дающие эндо-перекиси [100]. Диметилциклогексан дает характерную пару продуктов взаимодействия с $^1\text{O}_2$; он не очень хорошо растворим в воде, но может быть полезным в липидных системах [100]. Аналогичен ему лимонен, который образует шесть характерных продуктов взаимодействия с $^1\text{O}_2$.

По мнению автора работы [100], наилучшим из всех известных до сих пор зондов для $^1\text{O}_2$ является холестериновая система, предложенная в работе [102]. Авторы [102] пришли к выводу, что из многих распространенных клеточных компонентов, которые могли бы служить в качестве эндогенных ловушек $^1\text{O}_2$ при условии соблюдения упомянутых выше критерии, перспективными являются только ненасыщенные жирные кислоты и стерины. Они показали, что холестерин (холест-5-ен-3 β -ол), а также два других стерина: 5 α -холест-7ен-3 β -ол и 5 α -ланост-8-ен-3 β -ол, которые присутствуют в тканях млекопитающих, являются эффективными ловушками $^1\text{O}_2$, удовлетворяющими всем перечисленным выше критериям. Окисление этих стеринов синглетным кислородом дает гидроперекиси, совершенно отличные от гидроперекисей, полученных при окислении нормальным кислородом (см. также стр. 722—723).

б) Фотодинамическое воздействие на клетки и на субклеточные компоненты

Многие типы фотодинамических явлений изучены на клеточном уровне, например утрата клетками способности к образованию колоний, задержка и аномалии в делении клеток, индуцирование мутаций, уменьшение подвижности, изменение проницаемости мембраны и активного транспорта, потеря способности поддерживать рост бактериофага и т. д. [103]. Эти исследования проводились в основном с одноклеточными организмами, такими как бактерии [103—108]. Кроме того, фотодинамический эффект изучен на клетках млекопитающих в культуре. При этом наблюдалось прекращение роста и деструкция клеточных энзимов [109], прекращение митоза [110] и гибель клеток [111]. Имеются сообщения о повреждении клеточных органелл, но большинство существенных повреждений относится к ядру. Многие из изученных мутагенных и летальных эффектов, проявляющиеся в присутствии фотосенсибилизаторов, обусловлены конформационными изменениями, разрушением нитей или уничтожением оснований в нукleinовых кислотах [112].

В зависимости от того, какой сенсибилизатор участвует в фотодинамическом эффекте, инактивация клетки может быть трех типов [113]: 1) при атаке клетки извне, при этом сенсибилизатор остается за пределами клетки; 2) при атаке изнутри клетки, причем сенсибилизатор находится, главным образом в цитоплазме и 3) при атаке изнутри клетки, когда сенсибилизатор предпочтительно связывается с ДНК. В этих трех типах инактивации местами повреждения являются соответственно поверхность клетки, цитоплазма (энзимы, РНК и другие субклеточные структуры) и ДНК. Примером сенсибилизатора первого типа является краситель толуидиновый голубой; многие тиазиновые красители также принадлежат к этой категории. Ко второму типу относятся ксантены. К третьему типу относятся акридиновые красители, которые могут вызывать генетические изменения.

в) Генетические эффекты

Фотодинамическое действие на биологические системы во многих случаях вызывает повреждение генетического материала, приводя к мутациям или гибели системы [112]. Генетические эффекты (точечные мутации и хромосомные aberrации) обнаружены в различных биологических системах — от вирусов и бактериофагов до высших растений и организмов [112, 114—118]. Изучение фотодинамической инактивации бактериофагов показало, что нуклеиновая кислота бактериофага является мишенью для ${}^1\text{O}_2$ [115, 116]; при этом оказалось, что преимущественно разрушается гуанин [117].

Проникновение сенсибилизатора (красителя) в нуклеиновую кислоту и его прикрепление являются необходимыми ступенями в этом эффекте [118]. Некоторые из акридиновых красителей, например акридиновый оранжевый, представляют особый интерес при исследовании фотодинамического мутагенеза в микроорганизмах, вирусах и бактериофагах из-за высокого сродства к ДНК [119] и способности внедряться между соседними основаниями в спирали ДНК [120].

Прежде чем краситель сможет проявить сенсибилизующий эффект, он должен сначала проникнуть сквозь оболочку вируса. Инкубация с красителем в темноте увеличивает последующий эффект на свету; следовательно, проникновение красителя происходит в течение заметного времени [112]. В [121] показано, что эффективен только краситель, связанный внутри вирусной частицы. В [118] показано, что молекулы красителей, неэффективных в инактивации бактериофага, также могут связываться с активными местами нуклеиновой кислоты. При использовании смеси эффективных и неэффективных красителей конкуренция за связывание неэффективным красителем снижает инактивацию, вызванную эффективным красителем [112].

При фотодинамической обработке ДНК, помимо селективной деструкции гуанина, происходят многие физико-химические изменения в молекуле ДНК. О разрушении ДНК при обширной фотодинамической обработке с использованием акридинового оранжевого сообщено в работе [122]. Авторы этой работы наблюдали уменьшение температуры плавления ДНК, что свидетельствует об изменениях в ее конформации. При этом было обнаружено, что уменьшение температуры плавления пропорционально содержанию гуанина в ДНК. Авторы работы [117] наблюдали снижение тепловой стабильности ДНК фага T4; при этом денатурированная теплом ДНК фотоокислялась более легко, чем нативная ДНК.

Повреждение скелета молекулы ДНК при фотодинамической обработке исследовано в [123] путем изучения изменений вязкости. Авторы [123] полагают, что к ослаблению связей в скелете ДНК приводит деструкция соседних гуаниновых остатков.

г) Фотодинамическое повреждение мембран

Способность ${}^1\text{O}_2$ реагировать с липидами подтверждена в ряде работ [124—128]. Причиной повреждения мембран считается окисление липидов в результате фотодинамического воздействия [70, 73—80]. Показано, что производные жирных кислот [129] и холестерин [130] дают продукты фотоокисления, в которых двойная связь заметно смещена к аллильному положению, т. е. взаимодействие ${}^1\text{O}_2$ с липидами идет по реакции 1,3-циклогенприсоединения с образованием гидроперекисей. Скорость взаимодействия ${}^1\text{O}_2$ с ненасыщенными жирными кислотами примерно в $1,5 \cdot 10^3$ раз выше, чем для кислорода в основном состоянии. Образующиеся в этой реакции несопряженные гидроперекиси будут указывать на участие ${}^1\text{O}_2$ в перекисном окислении [102, 131, 132].

Особо важным случаем перекисного окисления липидов синглетным кислородом является фотоокисление холестерина в эритроцитах при наследственном заболевании «эритропоэз-протопорфирия» [94, 133]. При этом заболевании в эритроцитах больных обнаруживается в 10—

100 раз больше протопорфирина, чем в норме. Протопорфирин, будучи эффективным сенсибилизатором, продуцирует синглетный кислород, который повреждает мембранные эритроциты. Облучение крови больных эритропоэз-протопорфирией в присутствии кислорода приводит к гемолизу. При этом синглетный кислород взаимодействует с холестерином эритроцитов, образуя гидроперекись холестерина, вызывающую далее гемолиз эритроцитов [94, 133, 134]. Обнаружено, что в случае этого заболевания чрезвычайно эффективным является лечение путем приема внутрь β -каротина [135]. Защитным действием при фотогемолизе обладает также α -токоферол [94].

д) Фотодинамическое воздействие на белки

Первое сообщение о фотодинамическом воздействии на белки появилось еще в 1903 г. [136], когда было показано, что энзимы, такие как диастаза, инвертаза и пепсин, инактивируются на свету в присутствии эозина. С тех пор было проведено много исследований по фотодинамической деградации белков, в особенности энзимов [76, 77, 137]. Во всех изученных случаях фотодинамическое повреждение белков проявляется в изменении боковых цепей аминокислот, а разрыва пептидных или дисульфидных связей не происходит [76, 138].

Из двадцати аминокислот, которые встречаются в типичных белках, чувствительны к синглетному кислороду лишь пять: гистидин, триптофан, метионин, тирозин и цистеин, причем первые три реагируют с ${}^1\text{O}_2$ особенно быстро [139, 140]. Аминокислотные остатки, включенные в белки, обычно фотоокисляются медленнее, чем такие же аминокислоты, которые находятся в свободном состоянии в растворе. Включение аминокислоты даже в небольшой пептид может глубоко изменить ее чувствительность к фотоокислению, так же как и химию процесса фотоокисления [77].

При фотодинамической обработке происходит ряд физико-химических превращений белков в результате изменения чувствительных аминокислотных остатков. Отмечены изменения растворимости [141], поверхностного натяжения [142], вязкости [143], полярографического поведения [144], диффузионных свойств [145], свойств светорассеяния [146], форм оседания [147], оптического вращения [147], усвоемости протеазами [148], свойств связывания с металлами [149] и с коэнзимами [150], свойств связывания с гемом [151] и т. д. Большинство энзимов при фотодинамической обработке теряют свою катализическую активность [76, 137], гормоны утрачивают свою активность [149, 152], пропадают антигенные свойства [137] и теряется реакционная способность антител [153].

Аминокислотные остатки, чувствительные к фотодинамическому окислению, изменяются с различными скоростями в зависимости от условий реакции и от того, в каком белке они содержатся. Таким образом, можно провести селективное фотоокисление одного только типа остатка или ряда остатков в белках при использовании определенных сенсибилизаторов или условий реакции. Известно, что гистидиновые остатки в белках чувствительны к фотоокислению только тогда, когда имидазольное кольцо гистидина не несет заряда [77]. Таким образом, гистидиновые остатки практически не фотоокисляются при низких значениях рН [76]. Следовательно, при высоких значениях рН можно селективно фотоокислять гистидиновые остатки, а при низких рН — другие остатки [153—155]. Фотоокисление метионина или гистидина, входящих в активный центр, может быть использовано для изучения механизма действия ферментов [156].

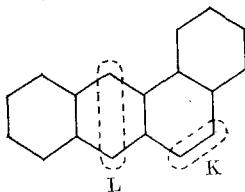
Фотоокисление было использовано при конформационном анализе белков [156—158]. Благодаря трехмерной структуре белка остатки, расположенные на поверхности белка, фотоокисляются с большей скоростью, чем те остатки, которые находятся на разной глубине внутри молекулы. Установлено, что для гистидиновых и метиониновых остатков

константы скорости фотоокисления остатков, находящихся на поверхности белка, в 14 раз больше, чем для расположенных в глубине молекулы [159].

Если сенсибилизатор находится в ассоциации с белком, то обеспечивается очень высокая степень селективности фотоокисления аминокислотных остатков, расположенных в близком соседстве друг к другу в результате трехмерного складывания молекулы белка. Хромофоры могут быть ковалентно связаны с определенными местами в молекуле белка, где они могут сенсибилизовать фотоокисление чувствительных соседних остатков. Некоторые белки содержат в своем составе хромофоры, которые способны сенсибилизовать фотоокисление аминокислотных остатков, расположенных поблизости. Насколько близко должны быть расположены сенсибилизатор и остаток, зависит от механизма фотоокисления. При этом фотодинамический эффект будет зависеть от расстояния, на которое синглетный кислород может диффундировать в течение его времени жизни [77]. Как отмечает автор работы [113], тот факт, что место генерации $^1\text{O}_2$ и место атаки могут быть разными, является уникальным свойством синглетного кислорода в фотодинамическом эффекте. Так, авторы работы [160] продемонстрировали миграцию $^1\text{O}_2$ через слой стеарата до 500 Å толщиной. Таким образом, молекула $^1\text{O}_2$ может переносить электронную энергию на довольно большие расстояния [113].

2. Участие синглетного кислорода в канцерогенезисе

Предпринимались многочисленные попытки найти корреляцию между канцерогенной активностью соединения и молекулярными электронными факторами: плотностью заряда [161], сродством к электрону [162], способностью образовывать комплексы с переносом заряда [163], способностью флуоресцировать [164] и энергией низшего триплетного состояния [165]. Наилучшей оказалась корреляция, предложенная в работе [161] в количественном виде, выраженная в работе [166]. Авторы [166] вычислили плотность зарядов для различных химических канцерогенных веществ и обнаружили, что канцерогенная сила связана с плотностью заряда K- и L-областей полициклических углеводородов:



K-область соответствует присоединению к двум соседним углеродным атомам, а L-область — присоединению к углеродным атомам, расположенным в *para*-положении в кольце. Легкость электрофильного присоединения в K- и L-положениях обусловлена увеличенной плотностью заряда на указанных атомах. K-Область может быть местом прикрепления молекулы углеводорода к составным частям клетки [167]. Показано экспериментально, что 1,2,5,6-дibenзантрацен фиксируется на белке, входящем в состав кожи, именно в K-области [168].

Продемонстрировано, что и L-область полициклических углеводородов также может включаться в связывание с белком клетки [168].

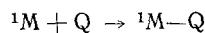
Опираясь на открытие того факта, что при тушении возбужденных состояний органических молекул (сенсибилизаторов) обычным молекулярным кислородом возникает синглетный кислород [82, 169—171], и учитывая свойства $^1\text{O}_2$ как эффективного окисляющего агента [12], Хан и Каша [172] предложили механизм канцерогенеза, включающий в себя промежуточное участие синглетного кислорода.

Согласно модели Пульманов [166], двумя необходимыми условиями канцерогенности полициклических углеводородов являются: присутствие активной K-области и отсутствие активной L-области. На основании

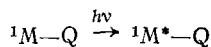
своих вычислений Пульманы предсказали, например, канцерогенную активность для 3,4-9,10-дibenзпирена прежде, чем это было показано экспериментально [173]. Пульманы в своей модели вынуждены были ввести весьма сложные индексы, чтобы объяснить большое число экспериментальных наблюдений; тем не менее полного успеха в предсказании канцерогенной активности достигнуто не было. Например, вопреки их модели 2',3'-3,4-нафтопирен канцерогенен [172], несмотря на присутствие очень активной L-области.

По теории Хана и Каши [172], для инициирования фотоканцерогенеза молекула связанного полициклического углеводорода должна продолжать поглощать естественный солнечный свет. Такую изменившуюся в результате связывания с клеткой молекулу углеводорода (т. е. то, что осталось от этой молекулы после связывания, см. рис. 2), авторы [172] называют «оптическим остатком». Таким образом, связанная молекула углеводорода в этой модели играет роль связанного сенсибилизатора, генерирующего синглетный кислород. Этот механизм канцерогенного действия можно представить схемой:

1) предварительное связывание молекулы углеводорода M со специфической составной частью клетки Q :



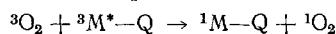
2) возбуждение образовавшейся молекулы светом:



3) интеркомбинационная конверсия в триплетное состояние:



4) фотосенсибилизированное образование синглетного кислорода:



5) реакция синглетного кислорода с основаниями ДНК, инициирующая канцерогенный процесс.

В этой модели остаточная молекула должна иметь удовлетворительную скорость интеркомбинационной конверсии из синглетного возбужденного состояния в триплетное состояние, а энергетическое расположение электронных состояний остаточной молекулы должно быть благоприятно для фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода (т. е. энергия триплетного состояния остаточной молекулы должна быть $\geq 22,5$ ккал/моль).

Хан и Каши указывают, что прикрепление молекулы M к составной части клетки в K- или L-области смещает две p , π -орбитали в сторону от делокализованной π -системы электронов молекулы полициклического углеводорода, в результате чего для оптического возбуждения связанной молекулы будет необходима более высокая энергия (см. табл. 1), т. е. в спектрах поглощения должно наблюдаться голубое смещение. Присоединение в L-области, как правило, приводит к более сильному голубому смещению полос поглощения по сравнению с присоединением в K-области. Этим может объясняться, почему наличие активного K-положения обычно благоприятствует канцерогенезису, тогда как активное L-положение обычно препятствует ему. Следует отметить, что в модели [172] наличие активной L-области не гарантирует отсутствия канцерогенной активности. Хан и Каши не приписывают никакой преимущественной роли K- или L-областями в индуцировании рака; в их модели разница между этими областями определяется только оптическими свойствами остаточного углеводорода, с точки зрения возможности сенсибилизации процесса образования синглетного кислорода.

Например, 3,4-8,9-дibenзпирен (рис. 2), согласно Пульманам, является сильным канцерогеном, так как он имеет высокоактивную K-область и не имеет активной L-области. Хан и Каши предполагают канцерогенную активность для этой молекулы на основании ее оптического поведения, так как присоединение ее к составной части клетки дает оптический остаток, который должен поглощать солнечный свет (см. табл. 1).

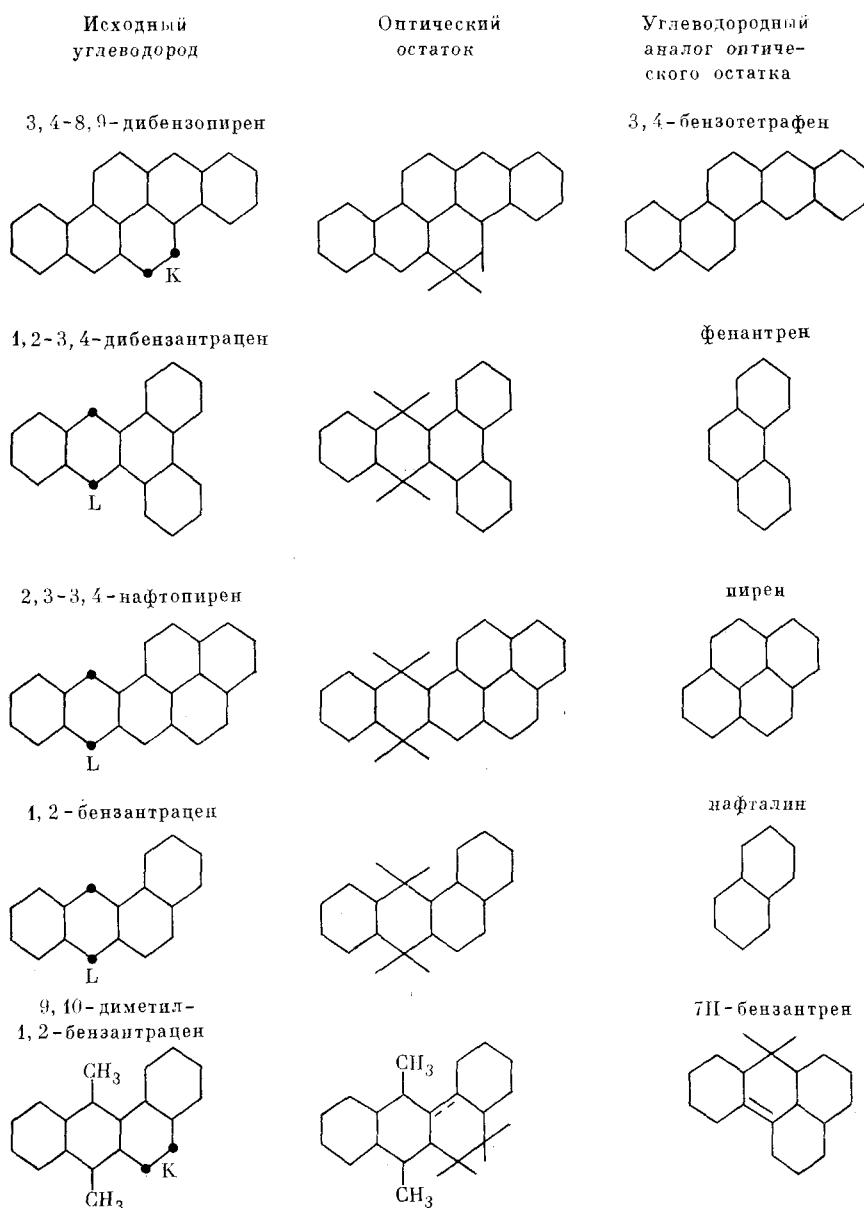


Рис. 2. Схематическое представление оптических остатков и их углеводородных аналогов для некоторых полициклических углеводородов

В экспериментальных тестах обнаружено, что 3,4-8,9-дibenзопирен действительно является активным канцерогеном [172].

Молекула 1,2-3,4-дibenзантрацена (рис. 2) имеет только активную L-область и, согласно модели Пульманов, не должна быть канцерогенной. Так как присоединение должно сместить спектр поглощения в УФ-область, Хан и Каша предсказали для этой молекулы незначительную фотоканцерогенную активность и подтвердили это экспериментально [172].

Молекула 2',3'-3,4-нафтопирена (рис. 2) не имеет активной K-области, имеет высокоактивную L-область и, согласно модели Пульманов, не должна проявлять канцерогенной активности. Однако это соединение, как обнаружено экспериментально [173], является мощным канцерогеном. Согласно модели Хана — Каша, остаточная молекула, образующаяся при присоединении исходной молекулы в L-области, имеет оптическое поглощение в области спектральной активности Солнца (табл. 1), поэтому 2',3'-3,4-нафтопирен должен иметь канцерогенную активность.

Таблица 1

Поглощение полициклических углеводородов и аналогов их оптических остатков после ковалентного присоединения к К- или L-областям [172]

Исходный углеводород	λ , нм	Аналог оптического остатка	λ , нм
3,4-8,9-Дибензопирен	480	3,4-бензотетрафен	410
1,2-3,4-Дибензантрацен	375	фенантрен	350
2,3-3,4-Нафтопирен	480	пирен	375
1,2-Бензантрацен	390	нафталин	317
9,10-Диметил-1,2-бензантрацен	390	7Н-бензантрен	350

Замещение может вызвать появление канцерогенной способности у неактивных прежде молекул. Например, 1,2-бензантрацен (рис. 2) не-канцерогенен, так как самое вероятное место присоединения его молекулы к составной части клетки находится в 9,10-положении антрацена; такое присоединение приведет к смещению спектра поглощения остаточной молекулы в энергетически недоступную область (см. табл. 1). Но введение заместителей в 9,10-положения (9,10-диметил-1,2-бензантрацен, рис. 2) приводит к тому, что вместо L-области молекула будет присоединяться К-областю; остаточный углеводород будет поглощать солнечный свет (см. табл. 1). И действительно, 9,10-диметил-1,2-бензантрацен имеет некоторую канцерогенную активность [174].

Интересно, что эти планарные молекулы полициклических углеводородов — и канцерогенные, и неканцерогенные — включаются в состав молекул ДНК [175, 176]. Поэтому Хан и Каша предполагают, что долгоживущая форма синглетного кислорода, генерированная остаточным полициклическим углеводородом, может диффундировать, вызывая окисление в весьма отдаленном участке цепи ДНК, или присоединяться к некоторым специфическим местам энзимов в клетке.

Первое экспериментальное испытание теории фотоканцерогенности Хана и Каша проведено в работе [172]. Мышей двух колоний (стойкая к раку кожи порода С₃Н) смазали разбавленным ацетоновым раствором 3,4-бензопирена в стандартной процедуре канцерогенного испытания и оставили на пять с половиной месяцев, причем одну колонию поместили в темную комнату. У мышей, живших в нормально освещенной комнате, оказалось в два раза больше кожных опухолей по сравнению с мышами из темной комнаты. Контрольные животные, жившие и в темной, и в нормально освещенной комнатах, не показали этого эффекта.

На основании изложенного выше можно, по-видимому, сделать вывод, что те молекулы, которые считаются неканцерогенными при дневном освещении (обычный диапазон длин волн солнечной радиации), могут стать канцерогенными при облучении УФ-светом.

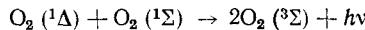
3. Люминесценция в биологических системах. Новый метод обнаружения синглетного кислорода в конденсированной фазе

В 1958 г. авторы работы [177] начали исследования сверхслабых свечений в биологических системах; измерения проводились с помощью фотомножителя, охлаждаемого жидким азотом и работающего в режиме счетчика фотонов. В 1961 г. были начаты широкие исследования сверхслабых свечений тканей и гомогенатов, а также свечения при окислении жирных кислот (см., например, [178]).

Среди этих исследований особенно интересны реакции, связанные с действием перекиси водорода на биологические субстраты. Было обнаружено сверхслабое свечение, сопровождающее ферментативное разложение перекиси водорода каталазой, пероксидазой, гомогенатами печени, суспензией дрожжей и эритроцитов; спектр свечения находился в области 420—530 нм с максимумами при 460 и 510 нм [177, 179]. Несколько позже авторы работы [180] подтвердили эти результаты, обна-

ружив хемилюминесценцию при разложении H_2O_2 каталазой и металлоаминами, служащими моделью каталазы; максимум излучения наблюдался при ~ 510 — 520 нм.

В 1966 г. появилось сообщение [181] о том, что при разложении перекиси водорода каталазой образуется синглетный кислород. Правда, авторы работ [79, 182] утверждают, что синглетный кислород при этом составляет не более 0,5% от всего кислорода, образующегося в этой реакции. Тем не менее, по-видимому, можно предположить, что в указанных выше сверхслабых свечениях при разложении перекиси водорода участвует излучение синглетного кислорода. Из принадлежащего ${}^1\text{O}_2$ спектра в наблюдаемый диапазон попадает полоса излучения при 478 нм, соответствующая бимолекулярному переходу [7]:



Синглетный кислород может выступать и как интермедиат, передающий свою энергию возбуждения другим флуоресцирующим молекулам [183, 184] и, таким образом, может участвовать в люминесценции косвенно. Существует еще один механизм люминесценции с участием синглетного кислорода. Как указывалось выше, в реакциях 1,2-цикlopри соединения ${}^1\text{O}_2$ образуются диоксетаны, которые затем разлагаются на карбонилсодержащие фрагменты, причем $\sim 15\%$ этих фрагментных молекул образуется в возбужденном состоянии [185]. Эта энергия возбуждения может быть испущена непосредственно фрагментом или перенесена от него к флуоресцирующей молекуле [79].

К сожалению, используемые для наблюдения сверхслабых свечений тканей растений и животных фотоумножители нечувствительны к излучению с длинами волн более 650 нм [178], в то время как самая характерная и наиболее интенсивная полоса в спектре синглетного кислорода находится при 1270 нм [11, 31, 169—171, 186]; эта полоса соответствует переходу $\text{O}_2 ({}^1\Delta) \rightarrow \text{O}_2 ({}^3\Sigma)$.

Полоса при 1270 нм зарегистрирована рядом авторов при изучении газофазных систем в процессе тушения триплетных состояний органических соединений молекулярным кислородом [11, 31, 169—171, 187, 188]. Однако в растворе ее долго не удавалось обнаружить, поскольку время жизни синглетного кислорода в конденсированной фазе снижается на восемь порядков по сравнению с газовой фазой [7, 15, 16, 184, 189, 190]. Эту полосу люминесценции удалось зарегистрировать в 1976 г. Красновскому мл. [191] в насыщенных воздухом растворах различных пигментов-фотосенсибилизаторов, генерирующих синглетный кислород. Вслед за работой [191] последовала целая серия работ этого же автора [192—199], в которых была использована чувствительная фотоэлектрическая техника и растворители (CCl_4 , CS_2 и фреон-112), сравнительно слабо взаимодействующие с ${}^1\text{O}_2$. В качестве пигментов-фотосенсибилизаторов были использованы ароматические углеводороды (антрацен и нафтацен), порфирины, хлорофиллы, бактериохлорофиллы и феофитины. Оказалось, что спектральная область свечения не зависит от природы растворителей и пигментов.

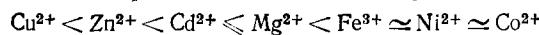
Во всех случаях обнаруживался максимум при 1271 ± 1 нм; при этом полуширина полосы излучения при записи с узкими щелями (≈ 4 нм) составляла 18 ± 1 нм, т. е. свечение соответствовало ${}^1\Delta$ -состоянию O_2 . Спектры возбуждения люминесценции во всех случаях совпадали со спектрами поглощения пигментов-сенсибилизаторов. Согласно измерениям Красновского [192—194], время жизни ${}^1\text{O}_2$ в CCl_4 равно 28 000 мкс, что значительно превышает значения, полученные ранее другими авторами [202].

Оказалось, что с помощью методики Красновского свечение ${}^1\text{O}_2$ можно наблюдать практически в любых органических растворителях [203], а также в D_2O и H_2O [195]. Следует отметить, что квантовый выход свечения в D_2O в 400 раз меньше, чем в CCl_4 , и составляет $\sim 1,2 \cdot 10^{-7}$, а измерение свечения ${}^1\text{O}_2$ в H_2O связано со значительными трудностями, и выраженного максимума излучения в H_2O наблюдать не удавалось;

однако этот максимум достоверно обнаруживается при разбавлении D_2O водой вплоть до соотношения 1:1.

При исследовании указанных выше систем Красновский пришел к выводу, что в растворах конкурируют два процесса: фотосенсибилизованная генерация 1O_2 и его тушение при соударениях с невозбужденными молекулами сенсибилизаторов [192]. Он показал, что порфирины, комплексы порфиринов с цинком, магнием и кадмием, хлорофиллы, феофитины, ретинали эффективно генерируют синглетный кислород [191—198]. Тушение люминесценции 1O_2 Красновский использовал в качестве метода изучения реакционной способности 1O_2 по отношению к различным соединениям. Этот метод, безусловно, более точен, чем применявшиеся до сих пор химические методы, основанные на измерении скорости расходования введенных в изучаемую систему ловушек 1O_2 .

В ходе этих экспериментов было обнаружено, что порфирины, хлорофиллы и феофитины являются также эффективными тушителями [192—198]. Комплексы порфиринов с металлами оказались еще более эффективными тушителями, чем порфирины без металлов; при этом активность тушителя зависит от природы центрального атома металла и от структуры порфиринового лиганда. По степени активности в процессах тушения металлы располагаются в следующий ряд:



Наиболее эффективными оказались комплексы порфиринов с Fe^{3+} , Ni^{2+} и Co^{2+} . Для этих соединений константа скорости тушения k_q не зависит от структуры лигандов, и во всех случаях приближается к константе скорости процесса, лимитируемого диффузией (k_d).

С целью выяснения механизма тушения Красновский измерил константы скорости (k_{ox}) химической реакции между 1O_2 и тушителями, приводящей к разрушению последних [194, 197]. Оказалось, что для порфиринов, хлорофиллов и каротиноидов $k_{ox} \ll k_q$, т. е. тушение определяется физическим процессом переноса энергии, без деструкции тушителя. Для липидов и ароматического углеводорода нафтацена $k_{ox} \approx k_q$, т. е. тушение определяется и деструктивным процессом. На основе сопоставления этих данных Красновский выдвинул предположение, что наиболее вероятными являются два механизма физического тушения: или прямой перенос энергии от 1O_2 на низколежащие уровни тушителей, или быстрый обмен электронами в эксплексе между 1O_2 и тушителями. Первый механизм возможен для тушителей, которые имеют энергетические уровни при $\ll 1$ эВ (например, для каротина, бактериохлоринов и комплексов порфиринов с Co , Ni и Fe). Для тушителей, у которых такие уровни отсутствуют, более вероятен второй механизм.

Тот факт, что ретинали, хлорофиллы и порфирины обладают способностью генерировать и тушить 1O_2 , имеет чрезвычайно большое значение для понимания таких фотобиологических процессов, как фотосинтез и зрение [197, 199]. Известно, что в фоторецепторах сетчатки всегда присутствует свободный ретиналь, который, как показано в работах [197, 199], является эффективным фотогенератором синглетного кислорода и поэтому может оказаться причиной повреждения сетчатки светом. Предполагается, что в системе защиты фоторецепторов от синглетного кислорода ведущая роль принадлежит α -токоферолу [204], содержание которого в наружных сегментах палочек сетчатки в 5—10 раз выше, чем в других биомембранах.

Несколько позже Красновского Хан и Каша также зарегистрировали люминесценцию 1O_2 при 1270 и 1580 нм в жидких растворах [200, 201]. При этом они использовали чрезвычайно чувствительный ИК-спектрометр с термоэлектрически охлаждаемым детектором из PbS . Гораздо более слабая полоса при 1580 нм соответствует переходу $^1\Delta(v'=0) \rightarrow ^3\Sigma(v''=1)$. Генерация 1O_2 происходила путем фотосенсибилизации в растворе, а также химическим путем в реакции перекиси водорода с гипохлоритом натрия. В качестве сенсибилизаторов использовались бен-

зофенон, гематопорфицин и др.; в качестве растворителей — перфторгексан, фреон, CCl_4 и вода.

Фотолюминесценцию 1O_2 можно использовать для обнаружения способности различных веществ генерировать 1O_2 на свету, а также для оценки эффективности этого процесса генерации. Таким образом, новый метод обнаружения синглетного кислорода может иметь большое значение не только для изучения природных биологических процессов, но и для изучения воздействия на природные системы экзогенных компонентов, что связано, в частности, с вопросами здравоохранения.

III. СИНГЛЕТНЫЙ КИСЛОРОД В ЗАГРЯЗНЕННОЙ ГОРОДСКОЙ АТМОСФЕРЕ

Возможность того, что синглетный кислород играет определенную роль в образовании фотохимического смога в нижней атмосфере, была впервые рассмотрена в шестидесятых годах [205, 206]. Позднее эта проблема была изучена более подробно [207—209]. В результате длительных исследований механизмов образования и распада фотохимического смога авторы работ [210, 211] пришли к заключению, что в загрязненной городской атмосфере синглетный кислород $O_2(^1\Delta$ и (или) $O_2(^1\Sigma)$ участвует в химических процессах в качестве окислителя. Эти авторы предположили, что некоторые необъяснимые до сих пор атмосферные химические и, возможно, биологические эффекты можно было бы приписать синглетному кислороду.

Таблица 2

Образование 1O_2 в загрязненной городской атмосфере [220]

Источник 1O_2	$w^*, 10^{-8} \cdot \text{ч}^{-1}$
Непосредственное оптическое поглощение	$<9,2 \cdot 10^{-3}$
Фотосенсибилизация	80
$O_3 + h\nu \rightarrow ^1O_2 + O^*$	0,1
$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + ^1O_2$	1140

* Здесь w — скорость продуцирования 1O_2 .

кислорода в загрязненной городской атмосфере [207]. Первые четыре механизма, а также вклад каждого из них в продуцирование синглетного кислорода показаны в табл. 2.

1. Непосредственное поглощение солнечного света

Авторы работ [207, 208] после ряда экспериментов со смесью воздуха и тетраметилэтилена на приборе с большой оптической длиной пути пришли к выводу, что непосредственное поглощение видимого излучения в области 550—770 нм нормальным кислородом приводит к образованию синглетного кислорода $O_2(^1\Sigma)$ (переход $^3\Sigma \rightarrow ^1\Sigma$ при 762 нм), который быстро дезактивируется до $^1\Delta$ состояния. Затем $O_2(^1\Delta)$ реагирует с тетраметилэтиленом и образуется соответствующая гидроперекись. Кроме того, поглощение при 1270 нм приводит к образованию $O_2(^1\Delta)$. Но поскольку эти переходы являются формально запрещенными, то и вклад этого механизма в общее продуцирование синглетного кислорода в атмосфере очень мал.

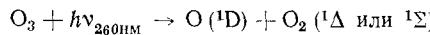
2. Перенос энергии от органических молекул в триплетном состоянии к кислороду в нормальном состоянии (фотосенсибилизация)

Значительное количество синглетного кислорода получается при непосредственном переносе электронной энергии к молекуле кислорода от молекул органического загрязняющего вещества в триплетном состоянии [207, 210, 212]. Этот механизм идентичен с механизмом Каутского для лабораторных реакций фотосенсибилизованного окисления [82]. Спек-

троскопические исследования, проведённые рядом авторов, показали, что $O_2(^1\Delta)$ производится газофазным переносом энергии к кислороду от облученных газообразных ароматических углеводородов с (π, π^*) -тривиальными состояниями (например, бензола и нафталина) [169, 171, 213] и карбонильных соединений, с (n, π^*) -тривиальными состояниями, например бензальдегида [208, 214]. Перенос энергии наблюдался также для гетерогенных систем газ — твердое вещество и газ — жидкость [215].

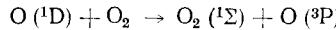
3. Фотолиз озона

Если озон облучается УФ-светом, он фотодиссоциирует на электронно-возбужденный атом кислорода $O(^1D)$ и молекулу кислорода в синглетном состоянии [216, 217]:



Этот механизм имеет особенно большое значение в верхних слоях атмосферы [218]. В нижних слоях атмосферы он менее важен по сравнению с механизмом переноса энергии [219, 220].

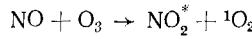
Существенным следствием образования атомов $O(^1D)$ в этой реакции является его участие в следующем процессе переноса энергии:



В результате образуются две окисляющие формы: синглетный молекулярный кислород и атомарный кислород в основном состоянии [207].

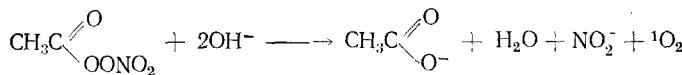
4. Экзотермические химические реакции

В загрязненной атмосфере наиболее важной экзотермической реакцией, дающей 1O_2 , является реакция между окисью азота и озоном [207], константа скорости которой равна $k = 1,2 \cdot 10^7 \text{ л/моль} \cdot \text{с}^{-1}$ [221]:



Кроме того, высказано предположение [222, 223], что озон мог бы подобным образом реагировать с рядом других загрязняющих атмосферу веществ, таких как сульфиды, с образованием синглетного кислорода. Известно, что подобные процессы в конденсированной фазе приводят к образованию синглетного кислорода [207].

Известна высокая реакционная способность нитрата пероксиацетила (ПАН) в химических и биологических системах *in vitro* и *in vivo*. Показано, что ПАН является одной из главных причин раздражения глаз и повреждения растений под действием загрязненной городской атмосферы [224—226]. Исследования более простых систем показали, что ПАН может действовать и как окисляющий, и как ацетилирующий агент [227, 228]. Щелочной гидролиз этого соединения приводит к образованию молекулярного синглетного кислорода [207, 229, 230]:



Таким образом, синглетный кислород следует рассматривать не только как возможный окислитель, действующий в окружающей среде, но и как промежуточный продукт в процессе окисления.

5. Комплексы с переносом заряда между углеводородом и кислородом

Авторы работ [208, 209] предложили пятый путь образования синглетного молекулярного кислорода, который заключается в следующем. При поглощении УФ-света короткоживущими комплексами столкновения олефин — кислород или ароматический углеводород — кислород происходит образование комплексов с переносом заряда между электронно-возбужденным углеводородом (донором электронов) и кислородом (акцептором электронов) в основном состоянии. Эти комплексы

могут затем распадаться, давая синглетный кислород и триплетный углеводород [207—209].

При образовании комплекса с переносом заряда между углеводородом и кислородом в спектре поглощения углеводорода появляется дополнительная сильная полоса поглощения, соответствующая переносу заряда, в результате чего возрастает интенсивность длинноволнового края полосы поглощения углеводорода и, кроме того, наблюдается смещение полосы в сторону больших длин волн («красное смещение») (см., например, [231, 232]). Тот факт, что длинноволновый край полосы поглощения углеводородов становится интенсивнее и смещается в красную сторону в присутствии кислорода при освещении, чрезвычайно важен для атмосферной фотохимии. Раньше считалось, что присутствие многих из загрязняющих соединений в окружающей среде несущественно, поскольку они не поглощают свет в области солнечного спектра. Однако указанное красное смещение полосы поглощения говорит о том, что некоторые из этих соединений в действительности поглощают в видимой области и, следовательно, участвуют в фотохимии загрязненной городской атмосферы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Herzberg G. In: *Molecular Spectra and Molecular Structure*, v. 1, *Spectra of Diatomic Molecules*, New York: Van Nostrand — Reinhold Co., 1950, p. 217, 320.
2. Pryor W. A. In: *Free Radicals*. New York: McGraw-Hill, 1966.
3. Kearns D. R., Hollins R. A., Khan A. U., Radlick P. J. *Am. Chem. Soc.*, 1967, v. 89, p. 5456.
4. Kearns D. R., Hollins R. A., Khan A. U., Chambers R. W., Radlick P. *Ibid.*, 1967, v. 89, p. 5455.
5. Matsuura T., Joshimura N., Nishinaga A., Saito I. *Tetrahedron Letters*, 1969, p. 1669.
6. Fish M. H., Gramain J. C., Oleson J. A. *Chem. Commun.*, 1970, p. 13.
7. Arnold S. J., Kubo M., Ogryzlo E. A. *Adv. Chem. Ser.*, 1968, v. 77, p. 133.
8. Foote C. S., Wong S.-Y. *Am. Chem. Soc. Preprints, Div. Petrol. Chem.*, 1969, v. 14, p. A93.
9. Bartholomew R. F., Davidson R. S. *Chem. Commun.*, 1970, p. 1174.
10. Gollnick A. *Advan. Chem. Ser.*, 1968, v. 77, p. 78.
11. Kearns D. R. *Chem. Rev.*, 1971, v. 71, p. 395.
12. Khan A. U., Kearns D. R. *Advan. Chem. Ser.*, 1968, v. 77, p. 143.
13. Kearns D. R., Khan A. U. *Photochem. Photobiol.*, 1969, v. 10, p. 193.
14. Kearns D. R. *J. Am. Chem. Soc.*, 1969, v. 91, p. 6554.
15. Arnold S. J., Ogryzlo E. A., Witzke H. *J. Chem. Phys.* 1964, v. 40, p. 1769.
16. Nicholls R. W. *Canad. J. Chem.*, 1969, v. 47, p. 1847.
17. Gollnick K. *Advan. Photochem.*, 1968, v. 6, p. 1.
18. Foote C. S., Denny R. W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, v. 93, p. 5162, 5168.
19. Kopecky K. R., Reich H. *J. Canad. J. Chem.*, 1965, v. 43, p. 2265.
20. Арабузов Ю. А. Успехи химии, 1965, т. 34, с. 1332.
21. Gollnick K., Schenck G. O. In: *1,4-Cycloaddition Reactions*. Ed. Hamer J. New York: Acad. Press, 1967, p. 255.
22. Foote C. S. *Acc. Chem. Res.*, 1968, v. 1, p. 104.
23. Wilson T., Hastings J. W. *Photophysiology*, 1970, v. 5, p. 49.
24. Trozzolo A. M., Fahrenholz S. R. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 61.
25. Stevens B. *Acc. Chem. Res.*, 1973, v. 6, p. 90.
26. Lechtken P. *Chemie in unserer Zeit*, 1974, B. 8, S. 11.
27. Adams W. R. In: *Oxydation*. Ed. Augustine R. L., Trecker D. J. New York: Marcel Dekker, 1971, v. 2, ch. 2.
28. Adam W. *Chemiker-Zeitung*, 1975, B. 99, S. 142.
29. Gollnick K., Schenck G. O. *Pure Appl. Chem.*, 1964, v. 9, p. 507.
30. Foote C. S. *Science*, 1968, v. 162, p. 963.
31. Wayne R. P. *Advan. Photochem.*, 1969, v. 7, p. 311.
32. Koch R. *Tetrahedron Letters*, 1968, v. 24, p. 6295.
33. Nelson E. K. *J. Am. Chem. Soc.*, 1911, v. 33, p. 1404.
34. Schenck G. O., Ziegler K. *Naturwissenschaften*, 1944, B. 32, S. 157.
35. Windaus A., Brunken J. *Lieb. Ann. Chem.*, 1928, B. 460, S. 225.
36. Moureu C., Dufraisse C., Dean P. M. *Compt. rend.*, 1926, v. 182, p. 1584.
37. Rigaudy J. *Pure Appl. Chem.*, 1968, v. 16, p. 169.
38. Rigaudy J., Basselier J. J. *Special Lectures of XXIII IUPAC Congress*, v. 1, London: Butterworth, 1971, p. 383.
39. Rigaudy J., Deletang C., Basselier J. J. *Seances Acad. Sci.*, 1966, v. 263, p. 1435.
40. Wasserman H. H., Larcen D. L. *Chem. Commun.*, 1972, p. 253.
41. Hart H., Oku A. *Ibid.*, 1972, p. 254.
42. Saito I., Kato S., Matsuura T. *Tetrahedron Letters*, 1970, p. 239.
43. Foote C. S., Brenner M. *Ibid.*, 1968, p. 6041.
44. Schulte-Elte K. H., Müller B. L., Chloff G. *Helv. Chim. Acta*, 1971, v. 54, p. 1899.

45. Rubottom G. M., Lopez Nieves M. I. *Tetrahedron Letters*, 1972, p. 2423.
46. Adam W. *Chemie in unserer Zeit*, 1973, B. 7, S. 181.
47. Adam W., Liu J.-C. J. Am. Chem. Soc., 1972, v. 94, p. 2987.
48. Adam W., Steinmetzer H.-C. *Angew. Chem.*, 1972, B. 84, S. 590.
49. Adam W., Simpson G. A., Yanu F. J. Phys. Chem., 1974, v. 78, p. 2559.
50. Foote C. S., Wexler S., Ando W. *Tetrahedron Letters*, 1965, p. 4111.
51. Litt F. A., Nickon A. In: *Oxidation of Organic Compounds-III, Advances in Chem.* Ser. № 77, Am. Chem. Soc., 1968, p. 118.
52. Gollnick K., Schroeter, Ohloff G., Shade G., Schenck G. O. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1965, B. 687, S. 14.
53. Schenck G. O., Gollnick K., Buchwald G., Schroeter S. *Ibid.* 1964, B. 674, S. 93.
54. Kopecky K. R., Mumford C. *Canad. J. Chem.*, 1969, v. 47, p. 709.
55. Kopecky K. R., Van de Sande J. H., Mumford C. *Canad. J. Chem.*, 1968, v. 46, p. 25.
56. Foote C. S., Lin J. W.-P. *Tetrahedron Letters*, 1968, p. 3267.
57. Huber J. *Ibid.*, 1968, p. 3271.
58. Fenical W., Kearns D. R., Radlick P. J. Am. Chem. Soc., 1969, v. 91, p. 3396.
59. Kearns D. R., Fenical W., Radlick P. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 32.
60. McCapra F., Hann R. A. *Chem. Commun.*, 1969, p. 442.
61. Janzen E. G., Lopp I. G., Happ J. W. *Ibid.*, 1970, p. 1140.
62. Evans N. A. *Austral. J. Chem.*, 1971, v. 24, p. 1971.
63. Mudry C. A., Frasca A. R. *Tetrahedron Letters*, 1973, p. 606.
64. Lightner D. A., Grandall D. C. *Ibid.*, 1973, pp. 953, 1799.
65. Adam W., Liu J.-C. *Chem. Commun.*, 1972, p. 73.
66. Adam W., Liu J.-C. J. Am. Chem. Soc., 1972, v. 95, p. 1206.
67. Ando W., Watanabe K., Suzuki Y., Migita T. *Ibid.*, 1974, v. 96, p. 6766.
68. Foote C. S., Peters J. W. *Ibid.*, 1971, v. 93, p. 3795.
69. Murray R. W., Jindal S. L. *J. Org. Chem.*, 1972, v. 37, p. 3516.
70. Spikes J. D. *Photophysiology*, 1968, v. 3, p. 33.
71. Raab O. Z. *Biol.*, 1900, B. 39, S. 524.
72. Jodlbauer A., Von Tappeiner H. *Deut. Arch. Klin. Med.*, 1905, B. 82, S. 520.
73. Blum H. F. In: *Photodynamic Action and Diseases Caused by Light*. New York: Reinhold, 1941.
74. Spikes J. D. *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 1967, v. 18, p. 409.
75. Mittal J. P. In: *Symposium on Singlet Molecular Oxygen*. Bombay, 1975, p. 21.
76. Spikes J. D., Livingstone R. *Advan. Radiat. Biol.*, 1969, v. 3, p. 29.
77. Spikes J. D., MacKnight M. L. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 149.
78. *Research Progress in Organic, Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972.
79. Фут Х. В. в кн.: *Свободные радикалы в биологии*, т. 2, М.: Мир, 1979, с. 96.
80. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. В сб. *Итоги науки и техники*, сер. Биофизика, т. 5. Ред. Владимиров Ю. А. М.: ВИНИТИ, 1975, с. 118.
81. Конев С. В., Волотовский И. Д. В кн.: *Фотобиология*. Минск: Изд. БГУ, 1979, с. 337.
82. Kautsky H. *Trans. Faraday Soc.*, 1939, v. 35, p. 216.
83. Бобровский А. П., Холмогоров В. Е. *Химия высоких энергий*, 1972, т. 6, № 2, с. 125.
84. Santamaria L., Prino G. In: *Research Progress in Organic Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972, p. XI.
85. Krinsky N. J. *Photophysiology*, 1968, v. 3, p. 123.
86. Foote C. S., Denny R. W., Weaver L., Chang Y., Peters J. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 139.
87. Stanier R. Y. *Brookhaven Symp. Biol.*, 1959, v. 11, p. 43.
88. Wilson T., Hastings J. W. *Photophysiology*, 1970, v. 5, p. 49.
89. Mathews M. M. *Nature*, 1964, v. 203, p. 1092.
90. Foote C. S., Denny R. W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, v. 90, p. 6233.
91. Foote C. S., Chang Y. C., Denny R. W. *Ibid.*, 1970, v. 92, p. 5216.
92. Grams G. W., Inglett G. E. *Lipids*, 1972, v. 7, p. 442.
93. Grams G. W., Eskins K. *Biochemistry*, 1972, v. 11, p. 606.
94. Fahrenholz S. R., Doleiden F. H., Trozzolo A. M., Lamola A. A. *Photochem. Photobiol.*, 1974, v. 20, p. 506.
95. Foote C. S., Ching Ta-Yen, Geller G. G. *Ibid.*, 1974, v. 20, p. 511.
96. Stevens B., Small R. D., Jr., Perez S. R. *Ibid.*, 1974, v. 20, p. 516.
97. Иванов И. И., Мерзляк М. Н., Тарусов Б. Н. В сб.: *Всес. III биохимический съезд. Тезисы докл.* Рига: Зиннатне, 1974, с. 188.
98. Мерзляк М. Н., Юферова С. Г. В сб.: *Физико-химические основы функционирования надмолекулярных структур клетки, часть 2*. Ред. Каган В. Е., М.: Изд. МГУ, 1974, с. 32.
99. Мерзляк М. Н., Юферова С. Г. *Физиология растений*, 1975, т. 22, с. 896.
100. Foote C. S. *Photochem. Photobiol.*, 1978, v. 28, p. 921.
101. Anderson K. F., Patel K. B. *Ibid.*, 1978, v. 28, p. 881.
102. Smith L. L., Stroud J. P. *Ibid.*, 1978, v. 28, p. 479.
103. Chandra P. In: *Research Progress in Organic Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972, p. 232.
104. Epstein S. S., Burroughs M., Small M. *Cancer Res.*, 1963, v. 23, p. 35.
105. Epstein S. S., Small M., Falk H. L., Mantel N. *Ibid.*, 1964, v. 24, p. 855.
106. Geissler E. *Naturwissenschaften*, 1959, B. 46, S. 376.
107. Harrison A. P., Jr. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1967, v. 21, p. 143.

108. *Lochmann E. R., Stein W., Umlauf C. Z. Naturforsch.*, 1965, B. 20b, S. 778.
109. *Hill R. B., Jr., Bensch K. G., King D. W. Exptl. Cell Res.*, 1960, v. 21, p. 106.
110. *Lewis M. R. Anat. Rec.*, 1945, v. 91, p. 199.
111. *Klein S. W., Goodgol S. H. Science*, 1959, v. 130, p. 629.
112. *Knowles A. In: Research Progress in Organic, Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972, p. 183.
113. *Ito T. Photochem. Photobiol.*, 1978, v. 28, p. 493.
114. *Zelle M. R. In: Research Progress in Organic, Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972, p. 280.
115. *Yamamoto N. Virus*, 1956, v. 6, p. 510.
116. *Yamamoto N. J. Bacteriol.*, 1958, v. 75, p. 443.
117. *Simon M. I., Van Vunakis H. J. Mol. Biol.*, 1962, v. 4, p. 488.
118. *Yamamoto N. In: Research Progress in Organic, Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972, p. 297.
119. *Peacocke A. R., Skerrett J. N. H. Trans. Faraday Soc.*, 1956, v. 52, p. 261.
120. *Lerman L. S. J. Mol. Biol.*, 1961, v. 3, p. 18.
121. *Wallis C., Melnick J. L. Photochem. Photobiol.*, 1965, v. 4, p. 159.
122. *Freifelder D., Mahler H. R. Biochem. Biophys. Acta*, 1961, v. 53, p. 199.
123. *Bellin J. S., Yankus C. A. Ibid.*, 1966, v. 112, p. 363.
124. *Howles R. M., Steele R. H. Res. Commun. Pathol. Pharmacol.*, 1971, v. 2, p. 619.
125. *Howles R. W., Steele R. H. Ibid.*, 1972, v. 3, p. 349.
126. *Dowty B., Laster J. L., Griffin G. W., Politzer J. R., Walkinshaw C. H. Science* 1973, v. 181, p. 669.
127. *Anderson S. M., Krinsky N. I. Photochem. Photobiol.*, 1973, v. 18, p. 403.
128. *Anderson S. M., Krinsky N. I., Stone M. J., Clagett D. C. Ibid.*, 1974, v. 20, p. 65.
129. *Rawls H. R., Van Santen P. H. Tetrahedron Letters*, 1968, 1695.
130. *Kulig M. J., Smith L. L. J. Org. Chem.*, 1973, v. 38, p. 3639.
131. *Hall G. E., Roberts D. C. J. Chem. Soc.*, 1966 (B), v. 11, p. 1109.
132. *Rawls H. R., Van Santen P. J. Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 135.
133. *Lamola A. A., Yamane T., Trozzolo A. M. Science*, 1973, v. 179, p. 1131.
134. *Doleiden F. N., Fahrenholz S. R., Lamola B. A., Trozzolo A. M. Photochem. Photobiol.*, 1974, v. 20, p. 519.
135. *Mathews-Roth M., Pathak M. A., Fitzpatrick T. B., Harber L. C., Kass E. H. J. Amer. Med. Ass.*, 1974, v. 228, p. 1004.
136. *Von Tappeiner H. Ber. Deut. Chem. Ges.*, 1903, B. 36, S. 3035.
137. *Vodrážka Z. Chem. Listy*, 1959, v. 53, p. 829; цит. по [77].
138. *Ghiron C. A., Spikes J. D. Photochem. Photobiol.*, 1965, v. 4, p. 13.
139. *Nilsson R., Merkel P. B., Kearns D. R. Ibid.*, 1973, v. 16, p. 124.
140. *Nilsson R., Kearns D. R. Ibid.*, 1973, v. 17, p. 65.
141. *Bellin J. S., Entner G. Ibid.*, 1966, v. 5, p. 251.
142. *Santamaria L., Santamaria R., Ciarfuglia M. Atti. Soc. Ital. Pathol.*, 1957, v. 5, p. 457; цит. по [77].
143. *Santamaria R., Corigliano G. G. Boll. Soc. Ital. Biol Sper.*, 1964, v. 40, p. 1801; цит. по [77].
144. *Fiala S. Biochem. Zeit.*, 1949, B. 320, S. 10.
145. *Brake J. M., Wold F. Biochim. Biophys. Acta*, 1960, v. 40, p. 171.
146. *Weil L., Buchert A. R. Arch. Biochem. Biophys.*, 1951, v. 34, p. 1.
147. *Sekiya K., Mii S., Tonomura Y. J. Biochem. (Tokyo)*, 1965, v. 57, p. 192; цит. по [77].
148. *Friedrich P., Polgár L., Szabolcsi G. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, 1964, v. 25, p. 217; цит. по [77].
149. *Weitzel G., Schaege W., Boden G., Willms B. Z. Naturforsch.*, 1965, B. 20b, S. 497.
150. *Millar D. B. S., Schwert G. W. J. Biol. Chem.*, 1963, v. 238, p. 3249.
151. *Breslow E., Koehler R., Girotti A. W. Ibid.*, 1967, v. 242, p. 4149.
152. *Paiva A. C. M., Paiva T. V. Biochim. Biophys. Acta*, 1961, v. 48, p. 411.
153. *Tyler A. J. Immunol.*, 1945, v. 51, p. 329.
154. *Jori G., Galiazzo G., Marzotto A. Biochim. Biophys. Acta*, 1968, v. 154, p. 1.
155. *Galiazzo G., Jori G., Scuffone E. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1968, v. 31, p. 158.
156. *Jori G., Galiazzo G., Marzotto A., Scuffone E. J. Biol. Chem.*, 1968, v. 243, p. 4272.
157. *Galiazzo G., Jori G., Scuffone E. In: Research Progress in Organic, Biological and Medicinal Chemistry*, v. 3, Ed. Gallo U., Santamaria L. New York: Elsevier, 1972, p. 137.
158. *Jori G., Galiazzo G., Marchiori F., Scuffone E. Int. J. Peptide Protein Res.*, 1970, v. 2, p. 247.
159. *Ray W. J., Jr., Koshland D. E., Jr. J. Biol. Chem.*, 1962, v. 237, p. 2493.
160. *Schnuriger B., Bourdon J. Photochem. Photobiol.*, 1968, v. 8, p. 361.
161. *Schmidt O. Z. Phys. Chem.*, 1938, B. 39, S. 59.
162. *Mason R. Nature*, 1958, v. 181, p. 820.
163. *Badger G. M. Adv. Cancer Res.*, 1954, v. 2, p. 73.
164. *Hieger I. J. Biochem.*, 1930, v. 24, p. 505.
165. *Moodie M. M., Reid C., Walllick C. A. Cancer Res.*, 1954, v. 14, p. 367.
166. *Pullman A., Pullman B. Cancerisation par le substances chimiques et structure moleculaire*. Paris: Masson, 1955.
167. *Cook J. W., Schoental R. J. Chem. Soc.*, 1948, v. 170, p. 170.
168. *Bhargava P. M., Heidelberger C. J. Am. Chem. Soc.*, 1956, v. 78, p. 3671.
169. *Kearns D. R., Khan A. U., Duncan C. K., Maki A. H. Ibid.*, 1969, v. 91, p. 1039.

170. Wasserman E., Kuck V. J., Delavan W. M., Yager W. A. *Ibid.*, 1969, v. 91, p. 1040.
171. Snelling D. R. *Chem. Phys. letters*, 1968, v. 2, p. 346.
172. Khan A. U., Kasha M. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 24.
173. Chalvert O., Daudel P., Daudel R., Moser C., Prodi G. In: *Wave Mechanics and Molecular Biologi*. Ed. de Broglie L., 1966.
174. McCarter J. A., Quastler H. *Nature*, 1962, v. 194, p. 873.
175. Boyland E., Green B. *Brit. J. Cancer*, 1962, v. 16, p. 507.
176. Lerman L. S. *J. Mol. Biol.*, 1961, v. 3, p. 18
177. Владимира Ю. А. Сверхслабые свечения при биохимических реакциях. М.: Наука, 1966.
178. Тарусов Б. Н., Веселовский В. А. Сверхслабые свечения растений и их прикладное значение. М.: Изд. МГУ, 1978.
179. Владимира Ю. А., Литвин Ф. Ф., Тань Мань-Ци. *Биофизика*, 1962, т. 7, с. 675.
180. Качанова Ж. П., Пурмаль А. П. *Ж. физ. химии*, 1964, т. 38, с. 200.
181. Anbar M. *J. Am. Chem. Soc.*, 1966, v. 88, p. 5924.
182. Porter D. J. T., Ingraham L. L. *Biochim. Biophys. Acta*, 1974, v. 334, p. 97.
183. Hastings J. W. *Ann. Rev. Biochem.*, 1968, v. 37, p. 597.
184. Kasha M., Khan A. U. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 5.
185. Darling T., Foote C. S. *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, v. 96, p. 1625.
186. Kasha M. *Photochem. Photobiol.*, 1978, v. 28, p. 921.
187. Duncan C. K., Kearns D. R. *J. Chem. Phys.*, 1971, v. 55, p. 5822.
188. Andrews L. J., Abrahamson E. W. *Chem. Phys. Letters*, 1971, v. 10, p. 113.
189. Adams D. R., Wilkinson F. J. *Chem. Soc., Faraday Trans.*, 1972, v. 2, p. 586.
190. Merkel P. B., Kearns D. R. *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, v. 94, p. 1029.
191. Красновский А. А., мл. *Биофизика*, 1976, т. 21, с. 748.
192. Красновский А. А., мл. Там же, 1977, т. 22, с. 927.
193. Красновский А. А., мл. *Изв. АН СССР, сер. физ.*, 1978, т. 42, с. 343.
194. Krasnovsky A. A., Jr. *Photochem. Photobiol.*, 1979, v. 29, p. 29.
195. Красновский А. А., мл. *Биофизика*, 1979, т. 24, с. 747.
196. Красновский А. А., мл. Венедиктов Е. А. Там же, 1978, т. 23, с. 387.
197. Красновский А. А., мл. Каган В. Е. *Докл. АН СССР*, 1978, № 1, с. 229.
198. Венедиктов Е. А., Красновский А. А., мл. *Изв. вузов, химия и хим. технол.*, 1979, т. 22, с. 395.
199. Krasnovsky A. A., Jr., Kagan V. E. *FEBS Letters*, 1979, v. 108, № 1, p. 152.
200. Khan A. U., Kasha M. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 1979, v. 76, p. 6047.
201. Khan A. U. *Chem. Phys. Letters*, 1980, v. 72, p. 112.
202. Long C. A., Kearns D. R. *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, v. 97, p. 2018.
203. Бытева И. М., Гуринович Г. П., Избавителев С. П. *Ж. прикл. спектр.*, 1978, т. 29, с. 156.
204. Каган В. Е., Барыбина Г. В. *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, 1977, т. 83, с. 411.
205. Leighton P. A. *Photochemistry of Air Pollution*. New York: Acad. Press, 1961.
206. Bayes K. D. VI Informal Photochemistry Conference. University of California. Davis, Calif., 1964.
207. Pitts J. N. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 239.
208. Coomber J. W., Pitts J. N. *Environ. Sci. Technol.*, 1970, p. 506.
209. Coomber J. W., Hebert D. M., Kummer W. A., Marsh D. G. *Ibid.*, 1970, p. 1141.
210. Khan A. U., Pitts J. N., Jr., Smith E. B. *Ibid.*, 1967, p. 656.
211. Pitts J. N. AAAS Divisional Symposium on Air Pollution. University of California. Los Angeles, Calif., 1967.
212. Pitts J. N., Jr., Khan A. U., Smith E. B. *Environ. Sci. Technol.*, 1969, p. 241.
213. Steer R. P., Sprung J. L., Pitts J. N., Jr., *Ibid.*, 1969, p. 946.
214. Kummier R. H., Bortner M. H. *Ibid.*, 1968, p. 944.
215. Daubendiek R. L., Magid H., McMillan G. R. *Chem. Commununs*, 1968, v. 00, p. 218.
216. Wayne R. P. In: *Advances in Photochemistry*, v. 7, Ed. Pitts J. N., Jr., Hammond G. S., Noyes W. A., Jr. New York: Intersci., 1969, p. 400.
217. DeMore W. B., Raper O. F. *J. Chem. Phys.*, 1966, v. 44, p. 1780.
218. Wayne R. P. *Quart. J. Roy. Meteorol. Soc.*, 1967, v. 93, p. 395.
219. Kummier R. H., Bortner M. H., Bauer T. *Environ. Sci. Technol.*, 1969, p. 248.
220. Kummier R. H., Bortner M. H. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1970, v. 171, p. 273.
221. Johnston H. S., Crosby H. J. *J. Chem. Phys.*, 1954, v. 22, p. 689.
222. Murray R. W., Kaplan M. L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1969, v. 91, p. 5358.
223. Murray R. W., Lin J. W.-P., Kaplan M. L. *Ann. New York Acad. Sci.*, v. 171, p. 121.
224. Stephens E. R. In: *Advances in Environmental Sciences*, v. 1, Ed. Pitts J. N., Jr., Metcalf R. L. New York: Intersci., 1969, p. 119.
225. Stephens E. R., Darley E. F., Taylor O. C. *Intern. J. Air Poll.*, 1961, v. 4, p. 79.
226. Dugger W. M., Jr., Ting I. P. *Phytopathology*, 1968, p. 1102.
227. Mudd J. B. *J. Biol. Chem.*, 1963, v. 241, p. 4077.
228. Mudd J. B., Dugger W. M., Jr. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1963, v. 102, p. 52.
229. Stephens E. R. *Atmos. Environ.*, 1967, v. 1, p. 19.
230. Steer R. P., Darnall K. R., Pitts J. N., Jr. *Tetrahedron Letters*, 1969, v. 43, p. 3765.
231. Tsubomura H., Mulliken R. S. *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, v. 82, p. 5966.
232. Шинкаренко Н. В. Автореф. дисс. на соискание уч. ст. канд. хим. наук. Л.: ЛТИ им. Ленсовета, 1973.