

全反式视黄醛水包油微乳体系的激光闪光光解研究

江 洁

(滁州职业技术学院 滁州 239000)

摘要 以十二烷基磺酸钠为表面活性剂, 环己烷为油相, 正丁醇为助表面活性剂制备了全反式视黄醛(All-trans retinene, ATRN)的水包油微乳体系, 然后利用 355 nm 激光闪光光解技术, 研究了微乳中 ATRN 的瞬态光化学性质。结果表明, ATRN 经由 355 nm 激光激发, 生成 ATRN 激发三重态($^3\text{ATR}^*$), $^3\text{ATR}^*$ 的瞬态特征吸收波长为 470 nm。在酸性环境中, $^3\text{ATR}^*$ 能与二苯胺发生电子转移反应, 生成 ATRN 中性自由基和二苯胺阳离子自由基。通过研究 $^3\text{ATR}^*$ 与生物分子和抗氧化剂之间的反应表明: $^3\text{ATR}^*$ 反应活性不高, 由此推断 ATRN 可能经由光动力 Type II 途径, 造成生物体系的光毒性。

关键词 全反式视黄醛, 微乳, 激光闪光光解, 光毒性, 活性氧

中图分类号 TL13, 0644.1

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2014.rj.32.050302

全反式视黄醛(All-trans retinene, ATRN)在视觉活动中扮演着必不可少的角色^[1-2]。在研究视黄醛参与视觉活动的机理时, 人们发现视黄醛及其复合物是一类潜在的内源性光敏剂。光对眼睛的损伤是多方面的, 主要取决于眼睛中所含的各种生色基团的光反应活性, 这些内源性生色基团包括类视黄醇、视紫红质和脂褐素^[3]。人的眼睛经常暴露在各种光线环境中, 而 ATRN 是视网膜中最丰富的光敏剂, 因此 ATRN 具有诱导眼睛光损伤的最大潜力。在非极性的均相体系中, ATRN 经过系间窜越生成 ATRN 激发三重态($^3\text{ATR}^*$), 且量子产额非常的高(0.4–0.82)^[4]。 $^3\text{ATR}^*$ 一方面能够有效地诱导活性氧(ROS)的产生, 另一方面, $^3\text{ATR}^*$ 可以通过抽氢或者电子转移反应氧化有机胺和酚氧类化合物^[5-6]。

以往 ATRN 瞬态光化学的研究主要在均相体系中进行, 然而 ATRN 是两亲性物质, 它在生理状态下倾向于分布在膜结构中, 这种分布状态是一种异相分布, 与均相体系相差较大, ATRN 在均相体系中所发生的瞬态光化学反应能否代表其在生物体中的真实情况, 将有待进一步研究。为此, 本文在水包油的微乳体系中使用 355 nm 激光闪光光解, 研究了 ATRN 的激发态, 推断了 ATRN 在微乳中的光敏化反应类型, 同时也考察了其激发态的反应活性。本文研究结果有利于深入了解 ATRN 在生理状态下的光毒性机理。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

全反式视黄醛(ATRN)、叠氮钠(NaN_3)和叔丁醇购自 Sigma; 二苯胺(DPA)、环己烷、正丁醇、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、浓磷酸、酪氨酸(Tyr)、抗坏血酸(VC)和没食子酸(GA)购自国药化学试剂有限公司; 色氨酸(Trp)、还原性谷胱甘肽(GSH)、十二烷基硫酸钠(SDS)、维生素 E(VE)、L-半胱氨酸(Cys)和溶菌酶(Lyso)购自上海生工生物工程有限公司; 亚油酸(LA)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)购自阿拉丁; 高纯氧, 高纯氮, 高纯氧化亚氮购自上海浦江特气有限公司, 含量 99.999%。

纳秒级激光闪光光解装置为同济大学生命科学与技术学院研制, 超声清洗仪(DL-360D, 上海之信仪器有限公司)、电子分析天平(AL204, Mettler Toledo, 瑞士)、紫外可见分光光度计(Cary 50 Probe, VARIAN, 美国)、pH 计(DELT 320, Mettler Toledo, 瑞士)及超纯水器(Milli-Q, 美国)。

1.2 微乳制备

微乳由油相, 表面活性剂, 水相和助表面活性剂组成, 本文油相使用环己烷, 表面活性剂为 SDS, 助表面活性剂为正丁醇, 水相为 $0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷

酸缓冲溶液。配制微乳时, 首先将 SDS, 正丁醇和水按照质量比 1:2:1 超声混合成溶液, 称之为乳剂, 然后将环己烷, 乳剂和水相按照体积比 2:6:17 进行混合, 则澄清透明的微乳便可自发形成。在制备待测物微乳液时, 可根据待测物的溶解性差异, 将它们事先溶解于环己烷、乳剂或者水相中, 然后再按照固定体积比混合, 便可制备含有待测物的微乳体系。不同 pH 值的微乳体系是通过加入不同 pH 值的磷酸盐缓冲液配制的, 而缓冲溶液是由 H_3PO_4 , NaH_2PO_4 , NaHPO_4 和 Na_3PO_4 分别按照不同的比例配制的, 微乳液的最终磷酸盐浓度为 $0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 激光闪光光解

激光闪光光解装置的激光源采用固体晶体激光器(J1K1 Laser System 2000 Neodymium/YAG), 波长为 355 nm, 脉冲宽度 5 ns, 单脉冲平均能量为 60 mJ。分析光源采用的是 300 W 的氙灯, 引入一种氙灯瞬时加亮技术, 在激光脉冲触发的瞬间。分析光与激光成垂直方向透过 1 cm 石英样品池, 经单色仪分光后由 R955 光电倍增管转化为电信号, 反馈补偿后由安捷伦高速数字示波器记录, 数据转至计算机后用自编软件进行处理。根据需要, 样品在实验前用 99.99% 的 N_2 除氧, 或以 O_2 或 N_2O 鼓泡 20 min 饱和, 所有实验均在室温下进行。

1.4 双分子反应速率常数的计算

$^3\text{ATRN}^*$ 与其他物质之间的反应速率常数在氮气饱和条件下, 按照公式(1)进行计算。

$$k_{\text{obs}} = k_0 + k_R [R] \quad (1)$$

式中, k_{obs} 代表 $^3\text{ATRN}^*$ 在其特征吸收峰 470 nm 处的假一级表观衰减速率常数(k_{obs} , 单位: 10^6 s^{-1}), k_0 代表在没有还原剂的情况下 $^3\text{ATRN}^*$ 在 470 nm 处的假一级表观衰减速率常数, $[R]$ 代表还原性物质的浓度, k_R 为线性拟合斜率, 通过 k_R 值计算双分子反应速度常数 (单位: $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$)。

2 结果与讨论

2.1 ATRN 在微乳中光激发反应的表征

微乳体系本身在 355 nm 处几乎没有吸收 (图 1), 因此使用 355 nm 激光激发样品时, 激光能量

主要被 ATRN 吸收。在中性的微乳体系中 (图 1), ATRN 在 355 nm 处具有吸收, 因此可用 355 nm 激光闪光光解进行研究。水相中 pH 值的变化不影响 ATRN 在微乳中的紫外可见吸收。说明水相中的 H^+ 或者 OH^- 对 ATRA 的结构影响不大。

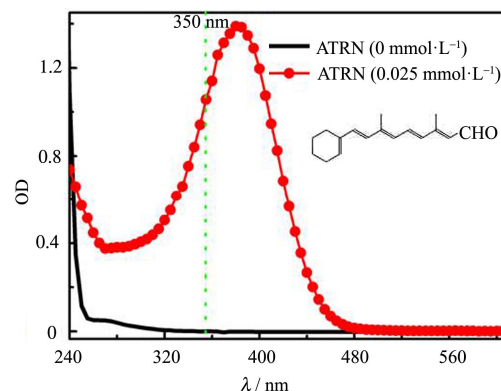


图 1 在 pH = 7.4 的条件下, 不同浓度 ATRN 的微乳体系的紫外可见吸收光谱

Fig.1 The absorption spectra of microemulsions at pH=7.4 with different concentrations of ATRN

在 pH = 7.4 和 N_2 饱和的条件下, 355 nm 激光闪光光解 ATRN 微乳体系所得的在不同时刻的瞬态吸收谱图表明, 在 470 nm 处呈现一个强而宽的瞬态吸收峰, 同时在 ATRN 的基态吸收波段范围内出现了较强的光漂白现象, 随着 470 nm 的瞬态吸收峰的衰减, 光漂白逐渐消失, 且在 390 nm 附近出现一个新的吸收峰 (图 2)。光漂白现象的出现表明在 355 nm 激光脉冲的激发下, ATRN 被消耗发生了光反应^[7]。

由瞬态图谱 (图 2) 可以看出, 在大于 600 nm 波段范围内几乎没有瞬态吸收出现, 说明光反应过程没有产生水合电子。 $^3\text{ATRN}^*$ 最大吸收波长随着溶剂的变化在 445 nm 和 480 nm 之间波动^[5,8-11]。为了验证 ATRN 是否发生了光激发, O_2 饱和的样品被用于 355 nm 激光闪光光解实验。通过比较 O_2 和 N_2 条件下所得的 0.5 μs 时刻的瞬态吸收谱图发现, O_2 能够使 470 nm 瞬态吸收消失 (图 3)。 O_2 是激发三重态的有效猝灭剂, 因此可以判断 470 nm 处的瞬态吸收应归属为 $^3\text{ATRN}^*$, $^3\text{ATRN}^*$ 能够与 O_2 发生能量转移反应生成单线态氧 ($^1\text{O}_2$)。同时 O_2 能够使光漂白现象几乎全部消失, 这说明在 355 nm 激光激发下, ATRN 主要发生了光激发反应生成了 $^3\text{ATRN}^*$ 。

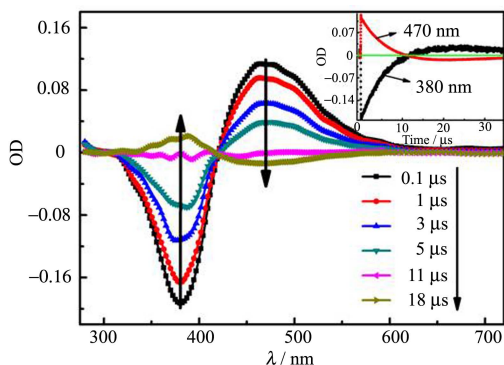


图2 在 pH = 7.4 和 N₂ 饱和的条件下, 355 nm 激光闪光光解 ATRN(0.05 mmol·L⁻¹)微乳体系后所得的瞬态吸收谱图
插图: 在 380 nm 和 470 nm 处的动力学衰减曲线

Fig.2 Transient absorption spectra obtained by 355 nm LFP of 0.05 mmol·L⁻¹ ATRN in N₂-saturated microemulsion at pH=7.4 after laser pulse: Inset: Kinetic decay curves recorded at 380 nm and 470 nm

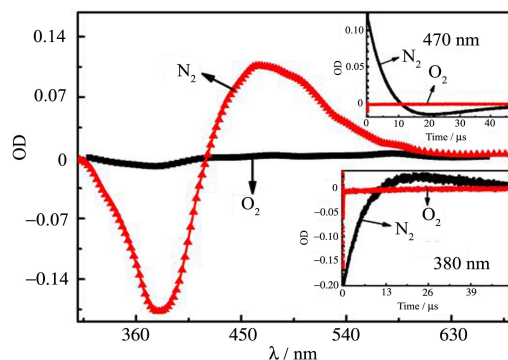


图3 在 pH = 7.4 的条件下, 355 nm 激光闪光光解分别经 N₂ 和 O₂ 饱和的 ATRN(0.05 mmol·L⁻¹)微乳体系后所得的在 0.5 μs 的瞬态吸收谱图 插图: 在 pH = 7.4 的条件下, 355 nm 激光闪光光解分别经 N₂ 和 O₂ 饱和的 ATRN(0.05 mmol·L⁻¹)微乳体系后所得的在 470 nm 和 380 nm 的动力学衰减曲线
Fig.3 Transient absorption spectra recorded at 0.5 μs obtained from 355 nm LFP of 0.05 mmol·L⁻¹ ATRN at pH=7.4 in N₂-saturated and O₂-saturated microemulsion, respectively. Inset: kinetic decay curves recorded at 470 nm and 380 nm obtained from 355 nm LFP of 0.05 mmol·L⁻¹ ATRN at pH=7.4 in N₂-saturated and O₂-saturated microemulsion, respectively



N₂ 饱和条件下的动力学衰减曲线表明(图2插图), 当 380 nm 处光漂白回到 0 点之后, 依然会出现一个生成过程, 如果 ³ATRN* 的猝灭是经过物理猝灭生成 ATRN 的过程, 那么当 ³ATRN* 衰减完成, 380 nm 处的 OD 值应回到 0 点, 不应该继续增加, 而实际上, 随着 ³ATRN* 在 470 nm 处的继续衰减, 380 nm 处的 OD 值一直增加, 直到 470 nm 处的动力学衰减完成, 它们的这种同步性说明 ³ATRN* 的

衰减会生成在 380 nm 附近具有吸收的瞬态物质。

O₂ 是激发三重态的有效猝灭剂, 在 O₂ 饱和条件下, ³ATRN* 被 O₂ 快速猝灭; 与此同时, 380 nm 处的光漂白迅速回到 0 点后, 其 OD 值不再增加(图3插图), 这说明当 ³ATRN* 被猝灭后, 反应体系中不再生成 380 nm 处的瞬态物质, 即是说 380 nm 处的瞬态物质来自 ³ATRN* 的次级反应。考虑到 ³ATRN* 具有一定的氧化性^[5], 且本文使用的微乳体系所含正丁醇具有一定还原性, 因此推测, ³ATRN* 与正丁醇之间可能发生了抽氢或者电子转移反应, 生成了 ATRN 阴离子自由基(ATRN^{•-})或者中性自由基。使用脉冲辐解技术所得到的 ATRN^{•-} 在甲醇体系中的最大瞬态吸收在 445 nm 附近, ATRN^{•-} 被质子化之后生成中性自由基(λ_{max} = 395 nm)^[12-13], 因此推断在微乳体系中 380 nm 处的瞬态物质可能是 ³ATRN* 与正丁醇之间发生抽氢反应所生成的 ATRN 中性自由基。

2.2 微乳中 ³ATRN* 与二苯胺之间的反应

³ATRN* 具有一定的氧化性, 在乙腈溶液中, 它能够通过电子转移或者抽氢反应氧化有机胺和酚氧类物质^[5]。而在微乳中, ³ATRN* 的衰减也伴随着其还原产物的生成, 推测 ³ATRN* 可能氧化了微乳中的正丁醇。为了进一步探讨 ³ATRN* 在微乳中的反应活性, 本文考察了 ³ATRN* 对亲核试剂二苯胺(DPA)的反应活性。

DPA 常被用于考察瞬态活性物质的反应活性。DPA 阳离子自由基(DPA^{•+})的 pK_a = 4.2, 其脱质子形式的中性自由基(DPA[•])在 700 nm 的吸收峰较宽且弱, 不易进行定性判断, 而 DPA^{•+} 在 680 nm 的吸收峰比较尖锐^[14], 容易进行定性分析。为此, 本文在酸性 pH 条件下考察了 ³ATRN* 与 DPA 之间的反应。

首先本文考察了 pH 对 ³ATRN* 生成和衰减的影响, 结果发现 pH 值(2.0、7.4 和 12.1)几乎不影响 470 nm 处 ³ATRN* 的动力学衰减曲线, 这说明 ³ATRN* 的生成和衰减几乎不受水相中 H⁺ 或者 OH⁻ 的影响。在 pH = 2.0 和 N₂ 饱和的条件下, 355 nm 激光闪光光解 ATRN 和 DPA 微乳体系所得的不同时刻的瞬态吸收谱图表明, 随着 ³ATRN* 在 470 nm 处的瞬态吸收的衰减, 在 380 nm 和 680 nm 处分别出现两个瞬态吸收峰(图4)。根据 ATRN 中性自由基的特征吸收峰位置可以判断 380 nm 处的瞬态吸收应归属于 ATRN 中性自由基, 而 680 nm 处的瞬

态吸收应归属于 $\text{DPA}^{\bullet+}$ 。由动力学衰减曲线可以看出 470 nm 处的动力学衰减过程与 680 nm 处的动力学生成过程是同步的(图 4 插图), 因此判断 680 nm 处的瞬态吸收应该是 DPA 被 $^3\text{ATRN}^*$ 单电子氧化之后的产物 $\text{DPA}^{\bullet+}$ 。

在 $\text{pH} = 2$ 和 N_2 饱和的条件下, 355 nm 激光闪光光解含有 ATRN 和 DPA 的微乳体系所得到的动力学衰减曲线表明, 随着 DPA 浓度的增加, $^3\text{ATRN}^*$ 在 470 nm 处的动力学衰减逐渐增加(图 5a)。将 DPA 浓度值与对应 DPA 浓度下 $^3\text{ATRN}^*$ 在 470 nm 处的表观假一级衰减速率常数(k_{obs})按照公式(1)进行线性拟合(图 5b), 由斜率值可求出 $^3\text{ATRN}^*$ 与 DPA 的反应速率常数: $1.2 \times 10^8 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

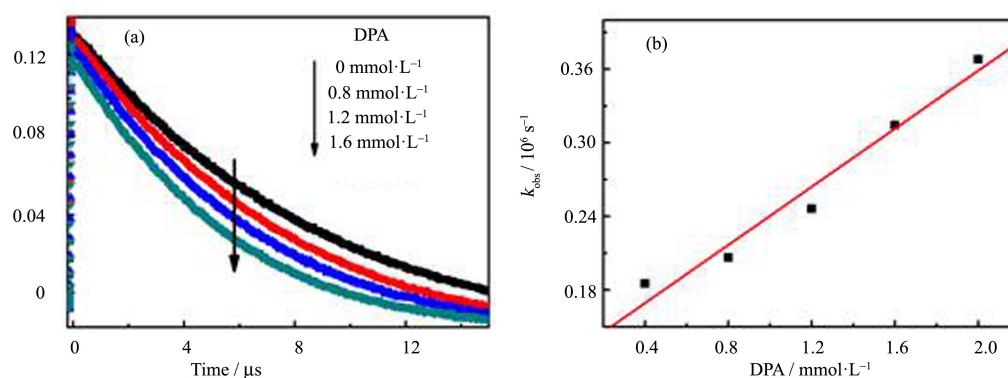
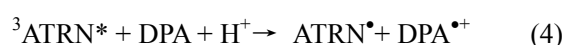


图 5 (a)在 $\text{pH} = 2$ 和 N_2 饱和的条件下, 355 nm 激光闪光光解 ATRN($0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和不同浓度 DPA 的微乳体系后所得到的在 470 nm 处的动力学衰减曲线; (b) $^3\text{ATRN}^*$ 在 470 nm 的 k_{obs} 与相应 DPA 浓度值之间的线性拟合

Fig.5 (a) Kinetic decay profiles observed at 470 nm from 355 nm LFP of 0.05 mM ATRN in microemulsion at $\text{pH} = 7.4$ in the presence of DPA ($0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $1.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $1.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); (b) Linear dependence of k_{obs} for $^3\text{ATRN}^*$ at 470 nm on DPA concentrations

2.3 微乳中 $^3\text{ATRN}^*$ 与其他所选物质的反应

为了考察 $^3\text{ATRN}^*$ 能否直接作用于生物分子, 本文在 $\text{pH} = 7.4$ 的微乳环境中考察了 $^3\text{ATRN}^*$ 对溶菌酶, 氨基酸(Tyr、Trp 和 Cys), 不饱和脂肪酸(亚油酸)和不同抗氧化剂(BHT、TBHQ、VC、GA、GSH 和 VE)的反应活性。由结果发现, $^3\text{ATRN}^*$ 几乎不与所选物质发生反应。Harper 和 Gaillard 研究了 $^3\text{ATRN}^*$ 与酚氧类化合物的反应, 发现它们之间的反应速率常数远小于扩散控制的速率常数($< 10^6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$)^[5]。其实反应速率常数小于 $10^6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 的双分子反应在我们的仪器中很难被计算出来, 所以在仪器的测量范围内, $^3\text{ATRN}^*$ 几乎不与所选物质发生反应, 即使发生反应, 速率常数也

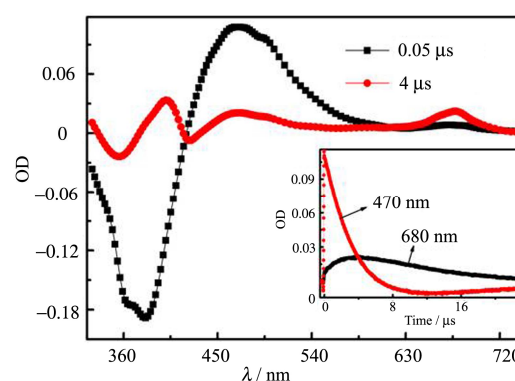


图 4 在 $\text{pH} = 2.0$ 和 N_2 饱和的条件下, 355 nm 激光闪光光解 ATRN($0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和 DPA($6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)的微乳体系所得到的瞬态吸收谱图插图: 470 nm 和 680 nm 处的动力学衰减曲线

Fig.4 Transient absorption spectra obtained by 355 nm LFP of $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATRN in N_2 -saturated microemulsion at $\text{pH} = 2.0$ in the presence of $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DPA after laser pulse. Inset: Kinetic decay curves recorded at 470 nm and 680 nm, respectively

非常小, 因此推断, 在自然环境下, $^3\text{ATRN}^*$ 本身的反应活性不强, 可能无法直接作用于生物分子。

光敏化过程对生物大分子的损伤一般分为两种类型, 第一种是直接损伤(Type I), 即是光敏剂的激发态与底物分子直接发生反应进而对生物分子造成损伤; 第二种是间接损伤(Type II), 此时光敏剂的激发态与 O_2 发生能量转移或者电子转移生成活性氧(ROS), 然后由 ROS 引起蛋白质, 氨基酸, DNA, 和 RNA 等生物大分子的损伤^[15-21]。本文的结果表明, 在异相的水包油微乳体系中, ATRN 经可见光照射, 发生光激发反应生成 $^3\text{ATRN}^*$, $^3\text{ATRN}^*$ 本身反应活性不强, 因而不能经由 Type I 的途径诱导生物分子损伤, 但是 $^3\text{ATRN}^*$ 能够被 O_2 有效猝灭, 诱导 ROS 的产生, 因此 ATRN 的光敏化过程可能是

通过 Type II 的途径引起生物体光毒性。

3 结论

在 pH = 7.4 和 N₂ 饱和的微乳体系中, 355 nm 激光闪光光解 ATRN 主要发生光激发反应生成 ³ATRN*; ³ATRN* 的特征吸收峰在 470 nm 处, 微乳中 ³ATRN* 的衰减会生成 ATRN 中性自由基。在 pH = 7.4 和 N₂ 饱和的微乳体系中, ³ATRN* 的动力学衰减几乎不受氨基酸, 溶菌酶, 亚油酸以及本文所选的各种抗氧化剂的影响。推测 ³ATRN* 在异相体系中的反应活性并不强, ATRN 的光敏化过程可能主要是通过诱导 ROS 产生的途径进行的。

参考文献

- Ritter E, Elgeti M, Bartl F J. Activity switches of rhodopsin [J]. Photochemistry and Photobiology, 2008, **84**(4): 911-920.
- Saari J C. Vitamin A metabolism in rod and cone visual cycles [J]. Annual Review of Nutrition, 2012, **32**: 125-45.
- Boulton M, Rozanowska M, Rozanowski B. Retinal photodamage [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001, **64**(2): 144-161.
- Wilbrandt R, Jensen N H. Time-resolved resonance Raman spectroscopy: the triplet state of all-trans- retinal [J]. Journal of the American Chemical Society, 1981, **103**(5): 1036-1041.
- Harper W S, Gaillard E R. Studies of all-trans-retinal as a photooxidizing agent [J]. Photochemistry and Photobiology, 2001, **73**(1): 71-76.
- Pawlak A, Wrona M, Rózanowska M, *et al.* Comparison of the aerobic photoreactivity of A2E with its precursor retinal[J]. Photochemistry and Photobiology, 2003, **77**(3): 253-258.
- Pan Y, Gao Y H, Yan L, *et al.* Reactivity of aromatic amines with triplet 1, 8-dihydroxyanthraquinone: a laser flash photolysis study [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2007, **66**(1): 63-67.
- Fisher M M, Weiss K. Laser photolysis of retinal and its protonated and unprotonated n-butylamine schiff base [J]. Photochemistry and Photobiology, 1974, **20**(5): 423-432.
- Dawson W, Abrahamson E W. Population and decay of the lowest triplet state in polyenes with conjugated heteroatoms: retinene [J]. The Journal of Physical Chemistry, 1962, **66**(12): 2542-2547.
- Guzzo A V, Pool G L. Energy transfer to the triplet level of all-trans retinal [J]. The Journal of Physical Chemistry, 1969, **73**(8): 2512-2515.
- Truscott T G, Land E J, Sykes A. The *in vitro* photochemistry of biological molecules. 3. Absorption spectra, lifetimes and rates of oxygen quenching of the triplet states of β -carotene, retinal and related polyenes [J]. Photochemistry and Photobiology, 1973, **17**(1): 43-51.
- Raghavan N V, Das P K, Bobrowski K. Transient phenomena in the pulse radiolysis of retinyl polyenes. 1. Radical anions [J]. Journal of the American Chemical Society, 1981, **103**(15):4569-4573
- Land E J, Lafferty J, Sinclair R S, *et al.* Absorption Spectra of Radical Ions of Polyenes of Biological Interest [J]. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1, 1978, **74**: 538-545
- Rao P S, Hayon E. Oxidation of aromatic amines and diamines by OH radicals. Formation and ionization constants of amine cation radicals in water [J]. The Journal of Physical Chemistry, 1975, **79**(11): 1063-1066.
- Heelis P F. The photophysical and photochemical properties of flavins (isoalloxazines) [J]. Chemical Society Reviews, 1982, **11**(1): 15-39
- Davies M J. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and consequences [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, **305**(3): 761-770.
- Davies K J A. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1987, **262**(20): 9895-9901.
- Matheson I B C, Etheridge R D, Kratowich N R, *et al.* The quenching of singlet oxygen by amino acids and proteins [J]. Photochemistry and Photobiology, 1975, **21**(3): 165-171.
- Davies K J, Delsignore M E, Lin S W. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1987, **262**(20): 9902-9907.
- Davies K J, Lin S W, Pacifici R E. Protein damage and degradation by oxygen radicals. IV. Degradation of denatured protein [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1987, **262**(20): 9914-9920.
- Epe B, Pflaum M, Bojtex S. DNA damage induced by photosensitizers in cellular and cell-free systems [J]. Mutation Research, 1993, **299**(3): 135-145.

Study on laser flash photolysis of all-trans retinene in oil-in-water microemulsion

JIANG Jie

(Chuzhou Vocational and Technical College, Chuzhou 239000, China)

ABSTRACT Oil-in-water microemulsion of all-trans retinene (ATRN) was synthesized in which SDS was used as surfactant, 1-butanol as cosurfactant, and cyclohexane as oil phase. Then 355 nm laser flash photolysis was used to investigate the transient photochemistry of ATRN in the microemulsion. The results showed that ATRN can be photoexcited by 355 nm laser light to produce the triplet state of ATRN ($^3\text{ATRN}^*$) with $\lambda_{\text{max}} \approx 470$ nm. In acidic solution, $^3\text{ATRN}^*$ can react with diphenylamine (DPA) *via* electron transfer to produce transient products of ATRN neutral radical and DPA radical cation. The study on the reactivity of $^3\text{ATRN}^*$ with lysozyme, amino acids and antioxidants showed that $^3\text{ATRN}^*$ may not interact directly with biomolecules, and ATRN may be phototoxic *via* PDT Type II photosensitization process.

KEYWORDS All-trans retinene, Microemulsion, Laser flash photolysis, Phototoxicity, Reactive oxygen species

CLC TL13, O644.1