

维甲酸和叶酸的太赫兹光谱

付秀华, 赵容娇, 杜 勇, 李向军, 刘建军, 洪 治

(中国计量学院 太赫兹技术与应用研究所, 浙江 杭州 310018)

摘 要: 利用太赫兹时域光谱技术(THz-TDS)在室温下对两种抗肿瘤维生素类药物维甲酸和叶酸在 0.2~1.8 THz 范围内进行了光谱测量,得到对应的吸收谱和折射率谱,发现叶酸和维甲酸在太赫兹波段都有明显的特征吸收峰,可作为其在太赫兹波段的指纹谱用于药物分子识别。同时,采用 Gaussian03 软件进行了单分子的密度泛函理论模拟,模拟中采用 B3LYP 结合高斯型基组 6-31 G(d,p),理论计算与实验结果基本吻合。另外,采用 Gaussian-View3.0 对叶酸和维甲酸在 THz 波段的特征吸收峰进行了指认。结果证明:利用太赫兹光谱技术结合密度泛函理论模拟对两种抗肿瘤维生素类药物分子识别及其新药研制具有一定的参考意义。

关键词: 太赫兹光谱; 维甲酸; 叶酸; 密度泛函理论; 振动模式

中图分类号: R917;O433 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2276(2013)05-1218-05

Terahertz spectrum of tretinoin and folic acid

Fu Xiuhua, Zhao Rongjiao, Du Yong, Li Xiangjun, Liu Jianjun, Hong Zhi

(Centre for Terahertz Research, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The absorption spectra of folic acid and retinoic acid were measured in 0.2-1.8 THz using terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS) system at room temperature, and the refractive index was obtained as well. Experimental results indicate that folic acid and retinoic acid both have distinct absorption features in the THz region, which can be used as fingerprints for the molecular recognition. At the same time, the Gaussian03 was used for isolated-molecule simulation, the density function B3LYP and Gaussian-type basis set 6-31 G (d,p) were chosen to perform all the theoretical simulations. Experimental results were in good agreement with the simulation. Meanwhile, the vibration modes for different absorption peaks of folic acid and retinoic acid were recognized by using Gaussian-View3.0. This work could be as certain references in kind of vitamin molecules recognition and new medicine research.

Key words: terahertz spectroscopy; retinoic acid; folic acid; density functional theory; vibration mode

收稿日期: 2012-09-03; 修订日期: 2012-10-15

基金项目: 浙江省自然科学基金(Y2110690)

作者简介: 付秀华(1987-), 女, 硕士生, 主要从事太赫兹光谱检测方面的研究。Email: fuxiuhua19870918@163.com

导师简介: 洪治(1964-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事太赫兹波技术和量子信息技术方面的研究。Email: hongzhi@cjlu.edu.cn

0 引言

太赫兹波是指频率位于 0.1~10 THz (1 THz = 1 012 Hz) 之间的电磁辐射的总称, 在电磁波谱上位于微波与红外之间^[1]。THz 波通过样品时会携带样品信息, 研究材料的 THz 光谱可以得到样品的复介电常数、吸收系数和折射率等物理和化学信息^[2-3], 从而研究样品的结构和动力学特性。同时, 由于 THz 脉冲的波长相对较长, 在生物组织中的散射比可见光和红外要小得多, 且光子能量很小, 测量时不会引起生物组织光致电离, 可以对样品进行无损检测, 近年来被广泛应用于化学、生物、医学、食品安全等^[4-7]多个领域的研究。2004 年, Strachan 等人^[8]利用太赫兹时域光谱 (THz-TDS) 技术研究了氨甲酰氮草、茚甲新的太赫兹吸收谱, 发现这两种分子在太赫兹波段均有特征吸收; 此后, Takahashi 等人^[9]研究了维生素 B12 核黄素太赫兹波段的光学特性, 发现在 300 K 时其特征峰位于 1.03、1.18、1.52、1.92 THz; 2009 年, 赵国忠等人^[10]利用 THz-TDS 技术研究了四种常见维生素类药物的光学特性, 发现四种维生素类药物均存在特征吸收, 并对特征峰产生原因进行指认。因此, 利用太赫兹谱可以鉴别同类或不同类的药物分子。

胃癌是国内最常见的恶性肿瘤。近年来, 维甲酸和叶酸对胃癌前病变、胃癌的逆转治疗受到国内外众多学者的关注。维甲酸 (Retinoic Acid, RA) 是维生素 A 的衍生物, 是机体正常发育和各种生理活动必不可少的重要物质, 是有效的体外胃粘膜细胞增生的抑制剂, 在细胞繁殖时调节其生长。维甲酸结构式由环状末端、多烯侧链和极性末端基团三部分组成, 当这三部分结构各自由不同基团取代时, 可得到生物活性不同的化合物。一定浓度的 RA 可调节细胞增殖、诱导分化和凋亡, 主要作用是 RA 与受体通过配体结合区域互相结合, 直接作用于靶基因, 更重要的是 RA 在肿瘤发生和治疗上具有一定的疗效^[11]。叶酸 (Folic acid, FA) 亦称维生素 Bc 或维生素 B9, 属于水溶性 B 族维生素。FA 作为重要的一碳载体, 在核苷酸合成、同型半胱氨酸的再甲基化等诸多重要生理代谢功能方面有重要作用, 它还是 DNA 和 RNA 合成过程中需要的物质, 在细胞生长、分化、修复和宿主防御等方面扮演重要角色。作为甲基供体,

FA 在基因调控所需的甲基化过程中起重要作用。FA 的抗肿瘤是其参与维护 DNA 的甲基化状态, 抑制肿瘤细胞中癌基因的表达^[12]。研究两种药物的分子结构及其动力学特性对于研究胃癌的治疗有着重要意义。

文中利用 THz-TDS 技术研究了 FA 和 RA 两种抗肿瘤类药物的光学特性, 并运用密度泛函理论对 RA 和 FA 进行了理论模拟, 理论模拟结果和实验结果基本吻合。此外, 两种维生素类药物的特征吸收谱存在明显差异, 同时对特征峰产生的原因进行了指认。该研究为鉴别 RA 和 FA 两种抗肿瘤维生素类药物分子及其联合应用抑癌作用的可行性方面提供一定的参考。

1 实验材料和数据处理方法

1.1 实验材料

实验所用 FA 和 RA 均是购自 Sigma-Adrich 公司, 纯度均大于 98%, 使用前未经过进一步纯化处理。实验中分别称取质量约为 220 mg 左右的样品, 使用红外光谱实验中常用的压片法, 将其制备成直径 13 mm, 厚度约为 1.5 mm 的实验测试样品, 样品结构均匀且两端面平行。

实验装置是购自美国 Zomega 公司的 Z-2 太赫兹时域光谱系统^[13], 该系统信噪比可达 70 dB, 整个测量环境为干燥的氮气环境, 相对湿度为 0%。

1.2 数据处理方法

样品光学参数的提取采用 Duvillaret 等人提出的方法见参考文献[14-15], 参考信号和样品信号的时域信号分别通过测量氮气和样品的五次平均所得。将时域信号进行快速傅里叶变换得到参考和样品的频域信号, 记为 $E_{\text{ref}}(\omega)$ 和 $E_{\text{sam}}(\omega)$ 。将 $E_{\text{sam}}(\omega)$ 和 $E_{\text{ref}}(\omega)$ 相除可以得到传递函数 $H(\omega)$ 可表示为:

$$H(\omega) = E_{\text{sam}}(\omega) / E_{\text{ref}}(\omega) = \frac{4\tilde{n}}{(1+\tilde{n})^2} e^{-j\frac{\omega d}{c}(\tilde{n}-1)} = \rho(\omega) e^{-j\varphi(\omega)} \quad (1)$$

式中: \tilde{n} 代表样品的复折射率; ω 代表频率; d 表示样品厚度; $\rho(\omega)$ 为振幅; $\varphi(\omega)$ 为相位。样品的光学参数折射率和吸收系数可以表示为:

$$\begin{cases} n(\omega) = \phi(\omega) \frac{c}{\omega d} + 1 \\ \alpha(\omega) = \frac{2\omega}{c} k(\omega) = \frac{2}{d} \ln \left[\frac{4n(\omega)}{\rho(\omega)(n(\omega)+1)^2} \right] \end{cases} \quad (2)$$

2 实验结果与讨论

室温下,通过 THz-TDS 装置测量得到样品的时域谱,经过傅里叶变换得到频域谱,利用公式(2)得到两种样品的吸收系数和折射率。图 1 和图 2 为两种维生素类药物维甲酸和叶酸在 0.2~1.8 THz 范围内的吸收和折射率谱。从图中可以看出,两种样品的吸收谱在吸收峰位置和强度上均存在明显差异,可以作为其在太赫兹波段的指纹谱用于物质识别。图 1 中,RA 的 4 个特征吸收分别位于 0.75、1.23、1.57、1.65 THz,其中较强的特征吸收为 0.75 THz、1.23 THz 和 1.65 THz,而在 1.57 THz 处的吸收较弱;由图 2 可知,FA 在一个明显的吸收峰,位于 0.46 THz,而在 0.80、0.90、1.01 THz 处的吸收较弱。同时,FA 在 1.1~1.8 THz 范围内吸收峰的位置及强度可能由于受样品的强吸收、系统信噪比及基线漂移的影响。

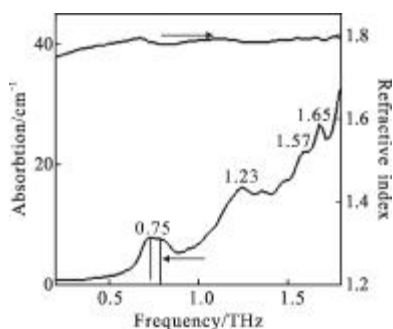


图 1 维甲酸的吸收谱和折射谱

Fig.1 Absorption and refractive spectra of tretinoin acid

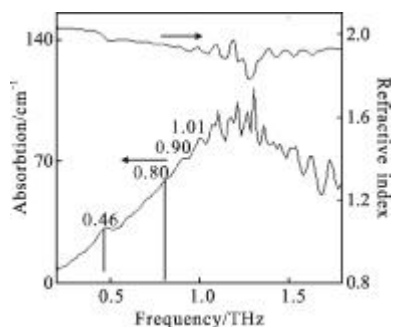


图 2 叶酸的吸收谱和折射谱

Fig.2 Absorption and refractive spectra of folic acid

两种抗肿瘤维生素类药物的折射率谱也存在一定差异,RA 和 FA 的折射率范围分别为 1.78~1.81 和 1.87~1.95;平均折射率分别为 1.80 和 1.91。同时每个吸收峰处对应的折射率都有一个特征变化,即呈现

反常色散特性。

3 密度泛函理论计算与分析

文中分别对两种维生素类药物 RA 和 FA 进行了理论计算,运用密度泛函理论的 Becke-3-Lee-Yang-Parr (B3LYP) 方法,结合 6-31G (d,p) 基组对 RA 和 FA 分子结构进行了精确优化,优化后的分子结构如图 3 所示。理论计算结果中均没有出现虚频,说明几何优化结果是单个分子的最小能量结构。

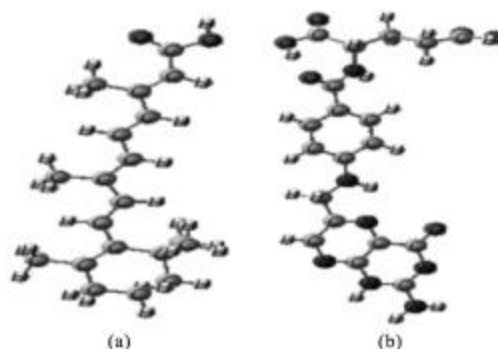


图 3 维甲酸和叶酸优化后的分子结构

Fig.3 Optimized molecule of tretinoin and folic acid

将理论模拟结果分别与实验结果光谱图进行比较,如图 4 和图 5 所示,实验和模拟的吸收峰位置基本吻合。图 4 中,RA 的吸收峰在 0.75、1.23、1.65 THz 处的吸收峰恰好分别对应模拟计算的 0.75、1.25、1.63 THz;图 5 中,FA 在 0.46、0.80 THz 的吸收峰分别对应模拟计算中的 0.47、0.79 THz。同时,RA 实验结果中的 1.57 THz 及 FA 实验结果中的 0.90 THz 和 1.01 THz 处的吸收峰,没有对应的理论模拟结果,并且模拟计算与实验结果存在少许偏移,主要原因分析如下:首先,因为实验是在室温下进行的,而理

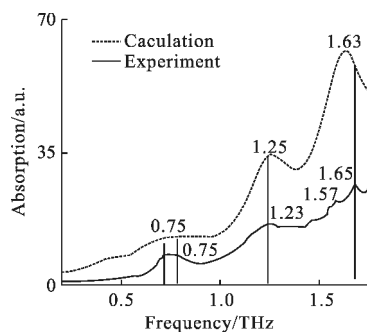


图 4 维甲酸的计算光谱与实验光谱比较图

Fig.4 Comparison between experimental and calculated spectra of tretinoin acid

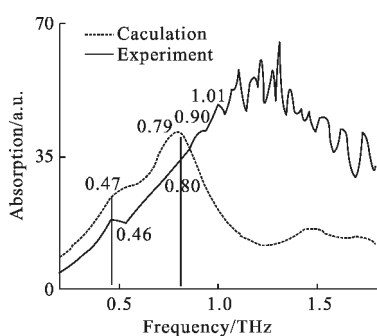


图 5 叶酸的计算光谱与实验光谱比较图

Fig.5 Comparison between experimental and calculated spectra of folic acid

论模型是在绝对零度下进行的, 模拟中没有考虑这种热效应, 这两种材料在 THz 波段可能受温度影响较大, 从而导致吸收峰有少许偏移; 其次, 实验中测量的是多个分子的晶体结构, 而理论模型采用的是单分子结构, 并没有考虑分子之间的相互作用, 因此, 可以认为有些振动模式是由分子间的振动造成的^[16-17]。生物分子在太赫兹波段的振动模式主要是由于多个原子参与的变形、扭动、摆动和弯曲振动引起的。借助 Gaussian-View3.0 的视频功能, 对实验与理论上对应的振动归属进行了指认: 维甲酸在 0.75 THz 处的吸收是由于 C13 甲基、C8 甲基、C11 甲基的摆动, 以 C18-C19-C20 为轴的链的扭动及苯环上 C14 亚甲基的摇摆振动, 以 C7 为中心的 O49-O50 链的摇摆振动, 如图 6(a) 所示; 在 1.25 THz 处的吸收是由 C10 和 C11 甲基的摇摆振动, O49 氢键的摆动以及 C15 亚甲基的摇摆扭动, 如图 6(b) 所示; 在 1.63 THz

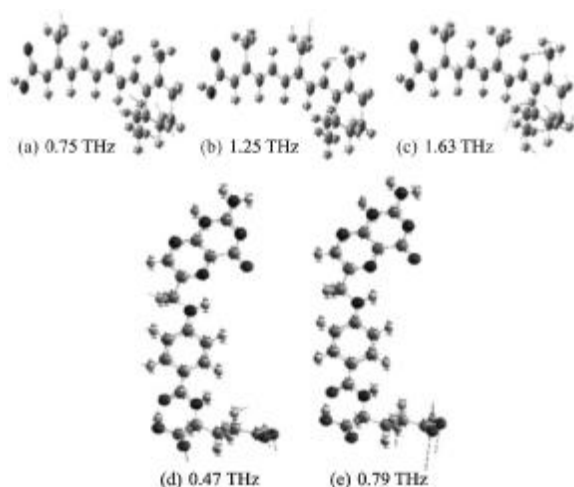


图 6 维甲酸和叶酸的振动模式图

Fig.6 Vibration modes of tretinoin and folic acid

处的吸收可归结为以苯环上 C1 为中心的 C8 和 C9 甲基的扭动带动整个链的摇摆振动, C10 和 C12 甲基的向外面摇摆振动, 如图 6(c) 所示; 叶酸在 0.47 THz 处的吸收是由 C27-C16-O40-O50 的扭动, 以及 C26-N9-C28-C29-N11-C30 苯环带动的相邻 C31-N12-C32-N10 苯环的集体摆动, 如图 6(d) 所示; 0.79 THz 处的吸收是由于 C27-O40-O50 的扭动引起的, 如图 6(e) 所示。所有振动模式均属于基团的集体振动模式。

4 结 论

利用 THz-TDS 系统测量了室温下治疗肿瘤用的两种维生素类药物的光谱, 结果表明维甲酸和叶酸的吸收峰和吸收强度均存在明显差异, 结合密度泛函理论进行了单分子模拟, 并对其在太赫兹波段的振动模式归属进行了指认, 发现都是以基团和整条链的摆动为主要特征。文中的研究结果为维生素类药物分子的检测提供了一定的参数。同时, 也可作为维甲酸和叶酸的联合应用及治疗肿瘤的新药研制提供一定参考。

参 考 文 献:

- [1] Zhu Jiangbo, Hou Chunling, Liu Xiao, et al. Performance analysis of THz signal over fiber generating system based on dual-stage single sideband modulation[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2009, 38: 1014-1019. (in Chinese)
朱江波, 侯春宁, 刘霄, 等. 双级单边带调制产生光纤载太赫兹信号的系统性能分析[J]. *红外与激光工程*, 2009, 38: 1014-1019.
- [2] Hua Y F, Zhan H J. Qualitative and quantitative detection of pesticides with terahertz time-domain spectroscopy[J]. *IEEE*, 2010, 58: 2064-2070.
- [3] Markelz A G, Knab J R, Chen J Y, et al. Protein dynamical transition in terahertz dielectric response[J]. *Chem Phys Lett*, 2007, 442: 413-417.
- [4] Hooper J, Mitchell E, Konek C, et al. Terahertz optical properties of the high explosive β -HMX [J]. *Chem Phys Lett*, 2009, 457: 309-312.
- [5] Chen J, Chen Y Q, Zhao H W, et al. Absorption coefficients of selected explosives and related compounds in the range of 0.1-2.8 THz[J]. *Opt Exp*, 2007, 15: 12060-12067.
- [6] Allis D G, Fedor A M, Korter T M, et al. Assignment of the

- lowest-lying THz absorption segment signatures in biotin and lactose monohydrate by solid-state density functional theory [J]. *Chem Phys Lett*, 2007, 440: 203-209.
- [7] Zhang Z Y, Xiao T Q, Zhao H W, et al. Quantitative analysis of nucleotide mixtures with terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2008, 28: 1990-1993. (in Chinese)
张增艳, 肖体乔, 赵红卫, 等. 核苷混合物的太赫兹光谱定量分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2008, 28: 1990-1993.
- [8] Strachan C J, Rades T, Newnham D A, et al. Using terahertz pulsed spectroscopy to study crystallinity of pharmaceutical materials[J]. *Chem Phys Lett*, 2004, 390: 20-24.
- [9] Takahashi M, Ishikawa Y, Nishizawa J, et al. Low-frequency vibrational modes of riboflavin and related compounds [J]. *Chem Phys Lett*, 2005, 401: 475-482.
- [10] Zhao G Z, Yu B, and Zhang C L. Terahertz spectroscopic investigation of four kinds of vitamins [J]. *J Appl Phys*, 2009, 106: 1-5.
- [11] Sun Yuexia, He Zhenping, Chen Feng, et al. Induction of differentiation of human gastric cancer cell line by retinoic acid[J]. *Journal of Cancer*, 1994, 16: 15-17.
孙月霞, 何震平, 程枫, 等. 维甲酸对人胃癌细胞诱导分化的研究[J]. *肿瘤杂志*, 1994, 16: 15-17. (in Chinese)
- [12] Gao Wei, Li Leijia, Xu Ping, et al. Effect of folic acid on biological characteristics of gastric cancer cell and expression of alkB gene [J]. *China J Gastroenterol*, 2010, 15: 540-543. (in Chinese)
高玮, 李雷佳, 许平, 等. 叶酸对胃癌细胞生物学特征以及 alkB 基因表达的影响[J]. *胃肠病学*, 2010, 15: 540-543.
- [13] Li X J, Hong Z, He J L, et al. Precisely optical material parameter determination by time domain waveform rebuilding with THz time-domain spectroscopy[J]. *Opt Commun*, 2010, 283: 4701-4706.
- [14] Duvillaret L, Greet F, Coutaz J L. A reliable method for extraction of material parameters in terahertz time-domain spectroscopy[J]. *IEEE*, 1996, 2: 739-746.
- [15] Duvillaret L, Greet F, Coutaz J L. Highly precise determination of optical constants and sample thickness in terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Appl Opt*, 1999, 38: 409-415.
- [16] Saito S, Inerbaev T M, Mizuseki H, et al. Terahertz phonon modes of an intermolecular network of hydrogen bonds in an anhydrous b-D-glucopyranose crystal [J]. *Chem Phys Lett*, 2006, 423: 439-444.
- [17] Taday P F, Bradley I V, Arnone D D, et al. Using terahertz pulse spectroscopy to study the crystalline structure of a drug: a case study of the polymorphs of ranitidine hydrochloride[J]. *Pharm Sci*, 2003, 92: 831-838.