

[Note]

www.whxb.pku.edu.cn

D-、L-和 DL-青霉胺的太赫兹时域光谱

吉 特 赵红卫 张增艳 葛 敏 王文锋 余笑寒* 徐洪杰

(中国科学院上海应用物理研究所, 上海 201800)

摘要 利用太赫兹时域光谱技术(THz-TDS)对 D-、L-和 DL-青霉胺的研究发现, 三种样品在 0.2 THz 到 1.8 THz 波段的吸收光谱存在显著差异, 实验结果表明, THz 吸收光谱能够鉴别青霉胺对映异构体, 这一特点将可以用于青霉胺药物的检测. 本文利用纯 D-、L-青霉胺的 THz 吸收光谱, 对 D-、L-青霉胺混合样品的 THz 吸收光谱进行拟合, 证明可以用 THz 光谱定量分析混合样品中 D-、L-青霉胺的相对含量. 这项研究为手性药物分子检测和分析提供了新的实验方法, 也对深入了解手性药物与生物靶分子之间相互作用提供了启示.

关键词: 太赫兹时域光谱, D-、L-、DL-青霉胺, 对映异构体, 定量分析

中图分类号: O641, O657.61

Terahertz Time-Domain Spectroscopy of D-, L-, and DL- Penicillamines

JI, Te ZHAO, Hong-Wei ZHANG, Zeng-Yan GE, Min

WANG, Wen-Feng YU, Xiao-Han* XU, Hong-Jie

(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, P. R. China)

Abstract Far-infrared absorption spectra of D-, L-, and DL- penicillamines have been measured by terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS) in the frequency range from 0.2 THz to 1.8 THz. The experimental results show large difference among absorption spectra of enantiomers (D- and L- penicillamines) and their racemic compound (DL- penicillamine), which probably originated from the difference of crystal structure and vibration modes of crystal lattice. The study indicates that THz-TDS can be used for discrimination of D-, L-, and DL- penicillamines. The absorption spectra of their mixtures have been fitted by the absorption spectra of D- and L- penicillamines, and we have demonstrated the feasibility of this method to determine quantitatively the mixture ratios of penicillamine enantiomers. These will not only give a new experimental method to distinguish chiral medicine, but also provide a suggestion for further comprehending the interaction of chiral medicine and target biomolecule.

Keywords: THz-TDS, D-, L-, and DL- penicillamines, Enantiomers, Quantitative analysis

太赫兹(Terahertz, THz, $1 \text{ THz} = 10^{12} \text{ Hz}$)辐射是位于微波和红外之间的电磁辐射, 由于分子的低频转动和振动跃迁落在这个波段, 使得 THz 光谱在化学、生物医药等领域有着广泛的应用前景^[1-5]. 太赫兹时域光谱(THz-TDS)是一种崭新的基于飞秒激光器的光谱探测技术, 它可以同时获得样品在 THz 波段的色散及吸收信息, 并且有较高的信噪比和探测灵敏度^[6]. 2000 年, 德国科学家 Walther 等^[7]首次利

用 THz-TDS 技术研究了视黄醛分子不同异构体 9-*cis*, 13-*cis*, *all-trans* 的 THz 吸收光谱的显著差异, 成功获得了视网膜分子不同振动模式及结构转换机制的重要证据. 在对不同组成和结构的氨基酸的 THz-TDS 研究中发现: THz-TDS 技术对探测物质结构存在的微小差异和变化非常灵敏, 具有反映化合物结构与环境的指纹特性^[8-10]. 最近我们在对几种常见五元糖的 THz-TDS 的研究表明该技术能够用于区

Received: February 14, 2006; Revised: May 26, 2006. *Correspondent, E-mail: yuxh@sinap.ac.cn; Tel: 021-59554729.

国家自然科学基金(10574134)和中国科学院知识创新工程资助项目

分阿拉伯糖的对映异构体和它们的外消旋化合物^[11]. 这些研究结果预示 THz-TDS 技术将在化学、制药业中发挥重要的作用.

手性药物的研究是化学不对称合成及药学领域的一个研究热点. 手性药物进入生物体内, 首先存在与生物体系之间的识别、容纳和相互作用过程, 手性药物的不同异构体对受体、酶、离子通道等作用及与靶点的结合差异会直接导致不同的治疗效果, 即表现出某些药物只有一种异构体有生物活性, 而另一种则可能无效乃至有毒性^[12]. 氢键、范德华力等弱相互作用是药物和生物分子相互识别的一个重要途径, 从能量的角度看, 这些弱作用力对应的振动频率恰好位于 THz 波段, 这为 THz 技术在分子识别和相互作用方面的研究提供了理论依据.

青霉胺(penicillamine)是用以治疗风湿性关节炎的常用药, 但只有 D-型是有效的, 同时 D-型对映体也是代谢性疾病和铅、汞等金属中毒的良好治疗剂, 而 L-型对映体则会导致骨髓损伤、嗅觉和视觉衰退以及过敏反应等, 表现出一定的毒副作用^[13-14]. 因此鉴别 D-、L-和 DL-青霉胺在实际应用中是十分重要的. 本文利用 THz-TDS 技术考察了 D-、L-和 DL-青霉胺在 0.2 到 1.8 THz 波段低频振动模式和吸收光谱差异, 从新的角度了解它们的结构特点, 为进一步利用 THz-TDS 技术来研究药物与生物大分子之间的弱相互作用力提供借鉴.

1 实验部分

1.1 实验装置

THz-TDS 装置由美国光谱物理公司制造的 Mai Tai 飞秒激光器和美国 Zomaga 公司研制的 THz 系统组成, 装置如图 1 所示. 激光器中心波长为 800 nm 可调, 脉冲宽度小于 100 fs, 重复率为 80 MHz. 激光脉冲被分为两路, 一路作为泵浦光, 激发大孔径 GaAs 光电导天线产生 THz 脉冲^[15]; 另一路作为探测光, 利用电光采样原理探测 THz 波的电场强度, 探测元件为 ZnTe 晶体^[16]. 通过扫描探测激光脉冲和 THz 脉冲的相对时间延迟, 即可得到 THz 脉冲随时间变化的电场波形. 测量时使 THz 光路处于氮气氛围中以减少空气中水分对 THz 波的吸收干扰. 实验在室温(21.0 °C)下进行, 温度波动小于 0.5 °C. THz 信号的动态范围大于 3000, 频谱分辨率好于 1 cm⁻¹.

1.2 样品制备

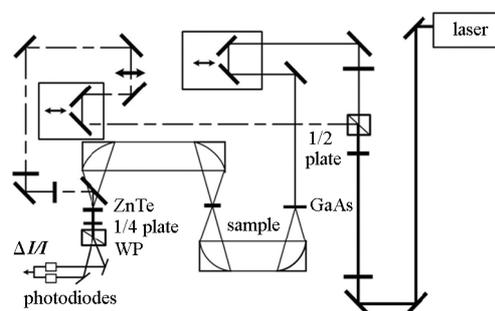


图 1 THz-TDS 实验装置示意图

Fig.1 Experimental setup for terahertz time-domain spectroscopy

D-、L-和 DL-青霉胺购于 Sigma-Aldrich 公司, 结构见图 2. 其纯度均大于 98%, 使用时未进一步纯化. 所有样品均以 1:1 的比例与聚乙烯(PE, 聚乙烯在 THz 波段的吸收很少, 基本是透明的)均匀混合后, 在压强为 3×10^8 Pa 压制成直径 13 mm, 厚度 1.5 mm 左右的薄片, 且样品表面无裂缝, 两平面保持平行.

1.3 数据分析方法

太赫兹脉冲穿过样品时会被样品散射和吸收. 实验测量得到太赫兹脉冲时域电场波形, 在穿过样品前后的电场强度分别记作 $E_i(t)$ 和 $E_o(t)$, 通过傅立叶变换得到穿过样品前后的太赫兹脉冲的频谱, 分别记作 $E_i(\nu)$ 和 $E_o(\nu)$, 两者的比值为

$$E_o(\nu)/E_i(\nu) = T(n) \exp[-\alpha(\nu)d + j2\pi\nu n(\nu)d/c] \quad (1)$$

其中 d 为样品厚度, ν 为频率, c 是真空中光速, $T(n)$ 是 THz 波在样品两界面处透射系数的乘积. 通过式 (1) 可以获得样品的吸收系数 α 和折射率 n .

2 结果和讨论

图 3 为室温下实验测到的 D-、L-和 DL-青霉胺在 0.2 THz 到 1.8 THz 波段的吸收系数(实线)和折射率(虚线)随频率变化的关系图. 考虑样品的多重反射影响, 频率在 0.2 THz 以下的数据没有选用. 从图中可以看出, 每个吸收峰的出现均被折射率的变

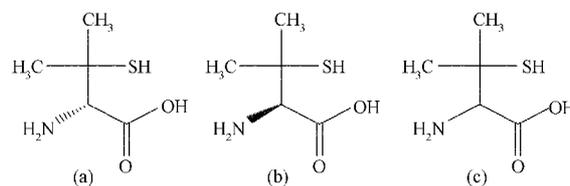


图 2 D- (a)、L- (b) 和 DL-青霉胺(c)的分子结构

Fig.2 Molecular structures of D- (a), L- (b) and DL-penicillamines (c)

化所证实,即每个样品折射率的谷出现在吸收系数下降沿的斜率极大处,这与 Kramers-Kronig 方程一致.三个样品分子的吸收光谱有着明显的差异,对于 DL-青霉胺,有两个强吸收峰,分别在 1.36 和 1.66 THz,在 1.53 THz 处有较弱的吸收峰;L-和 D-青霉胺都有一个强吸收峰,分别位于 1.52 THz 和 1.58 THz,这和 Howard-Lock 等^[17]用拉曼光谱技术测的 D-青霉胺光谱的低频吸收峰在 1.56 THz 结果基本一致.另外,D-青霉胺在 1.0 THz 和 1.3 THz 处还有弱的吸收峰.一般来说,对于不含重原子的固体而言,其远红外区的吸收主要是分子间的振动,包括:(1)分子间的相互作用如氢键振动等;(2)晶格振动,即将晶体内部的分子或离子当成一个整体,它们在晶格中的相对运动(平动、扭动或摆动)所引起的振动吸收^[18].已有研究报道了 D-、L-和 DL-丙氨酸的 THz 吸收光谱,实验结果显示对映异构体和它们的外消旋化合物的光谱图有着明显的差异,而 D-和 L-丙氨酸并没有区别,并且已经被证实低频波段的光谱吸收源于分子间的振动模式^[9].青霉胺对映异构体和它们的外消旋化合物的分子晶体结构有一定差异. D-、L-青霉胺的晶体结构属正交型,单位晶胞中含四个单分子,空间群为 $P2_12_1$; DL-青霉胺的晶体结构属单斜晶系,单位晶胞中也含四个单分子,空间

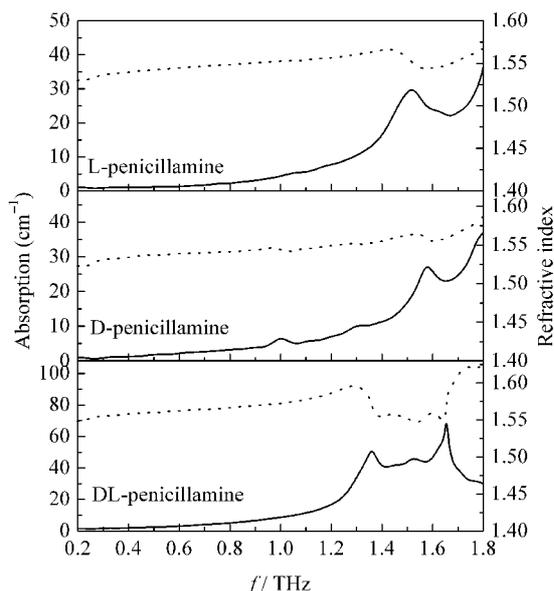


图3 D-、L-和 DL-青霉胺在室温下的 THz 吸收系数(实线)和折射率(虚线)

Fig.3 THz absorption coefficient (solid line) and refractive index (dot line) of D-, L- and DL-penicillamines at room temperature

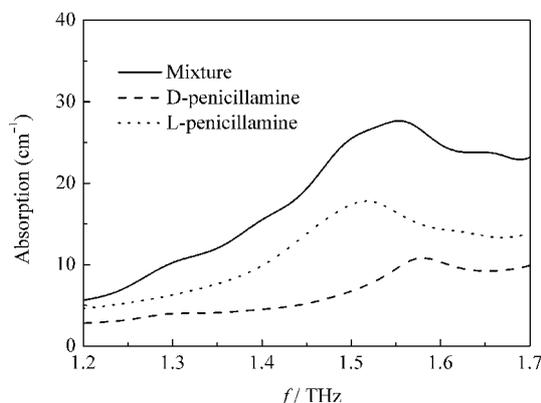


图4 D-、L-青霉胺以及它们混合物的吸收光谱

Fig.4 The absorption spectra of D-, L- penicillamines and their mixture

群为 $P2_1/c$ ^[17].从图3可以看出,对映异构体在 0.2~1.8 THz 这个波段各自有一个强吸收峰,而对应的外消旋化合物却有两个非常尖锐的吸收峰,表明 THz 光谱对晶体结构非常敏感,晶体结构上的差异使得它们在 THz 波段的光谱有着显著的差别.另外,由于 D-和 L-青霉胺是对映异构体,它们的分子构造相同而构型互为镜像关系,这种构型的不同可能会导致分子内及分子间相互作用有一定的差异,即晶格振动的差异.从实验测量结果来看,它们的吸收光谱除了一个强吸收峰的峰位有一定的差异外,在较低频段,D-青霉胺还存在两个弱的吸收峰.因此初步推断,两者吸收峰的差异是晶格振动的不同所引起的.这个实验结果显示,利用 THz-TDS 可以鉴别出青霉胺对映异构体和它们的外消旋化合物,这为鉴别对映异构体提供了一种新的研究手段,给药物质量监控和药物成分分析提供了新的方法.

基于前述的实验结果,我们测量了 D-和 L-青霉胺对映异构体固体粉末以不同比例混合制备的样品的 THz 吸收光谱,图4是含有 40% D-青霉胺和 60% L-青霉胺混合样品的吸收光谱.以纯 D-、L-青霉胺 THz 光谱作为标准谱,并且分别乘以系数 0.4 和 0.6,如图4所示.根据朗伯-比尔定律,当纯样品的吸收系数分别为 $\alpha_1, \alpha_2 \dots \alpha_n$ 时,混合样品的吸收系数 α 为

$$\alpha(\omega) = \sum_{i=1}^n x_i \alpha_i(\omega) \quad (2)$$

根据式(2),当已知纯样品和混合样品的吸收系数时,采用最小二乘法拟合,可以求出几种样品在混合物中的百分含量.本文用 1.2~1.7 THz 之间的吸收光谱进行拟合,计算得到各样品中 D-青霉胺所占的百

分含量, 并与样品制备时所用的实际含量进行比较. 在几个不同的混合样品中, D-青霉胺的实际含量分别为 20%、40%、60%、80%, 而计算 D-青霉胺在混合样品中的含量分别为 18.46%、37.88%、59.02%、77.80%. 从计算结果来看, 用 THz 光谱拟合得到的含量与样品中实际的百分含量很接近, 用 THz 光谱拟合的方法可以定量地确定青霉胺对映异构体在它们混合物中的含量, 这为该药物的定量分析提供了新的手段.

3 结 论

利用 THz-TDS 技术获得了室温条件下 D-、L-和DL-青霉胺在 0.2 THz 到 1.8 THz 波段的吸收谱, 实验结果表明它们的 THz 吸收谱之间存在着显著的差异, 这些差异可能是由于晶体结构以及晶格振动的不同所引起的. 把纯 D-、L-青霉胺 THz 吸收光谱作为标准谱, 对它们混合样品的 THz 吸收光谱进行拟合, 得到了 D-、L-青霉胺在它们混合样品中的相对含量, 结果表明 THz-TDS 技术对青霉胺对映异构体和浓度差异具有较好的敏感性, 有可能成为手性药物检测和定量分析中的一种新手段.

References

- 1 Ferguson, B.; Zhang, X. C. *Nature Materials*, **2002**, **1**(1): 26
- 2 Markelz, A. G.; Roitberg, A.; Heilweil, E. J. *Chem. Phys. Lett.*, **2000**, **320**: 42
- 3 Walther, M.; Plochocka, P.; Fischer, B.; Helm, H.; Jepsen, P. U. *Biopolymers*, **2002**, **67**: 310
- 4 Chen, Y. Q.; Liu, H. B.; Deng, Y. Q.; Schauki, D.; Fitch, M. J.; Osiander, R.; Dodson, C.; Spicer, J. B.; Shur, M.; Zhang, X. C. *Chem. Phys. Lett.*, **2004**, **400**: 357
- 5 Strachan, C. J.; Rades, T.; Newnham, D. A.; Gordon, K. C.; Pepper, M.; Taday, P. F. *Chem. Phys. Lett.*, **2004**, **390**: 20
- 6 Zhang, J. Q.; Grischkowsky, D. *Opt. Lett.*, **2004**, **29**(9): 1031
- 7 Walther, M.; Fischer, B.; Schall, M.; Helm, H.; Jepsen, P. U. *Chem. Phys. Lett.*, **2000**, **332**: 389
- 8 Yamaguchi, M.; Miyamaru, F.; Yamamoto, K.; Tani, M.; Hangyo, M. *Appl. Phys. Lett.*, **2005**, **86**(5): 053903
- 9 Wang, W. N.; Yue, W. W.; Yan, H. T.; Zhang, C. L.; Zhao, G. Z. *Chinese Science Bulletin*, **2005**, **50**(15): 1561
- 10 Shi, Y. L.; Wang, L. J. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2005**, **38**: 3741
- 11 Ge, M.; Zhao, H. W.; Ji, T.; Yu, X. H.; Wang, W. F.; Li, W. X. *Science in China B*, **2005**, **35**(6): 441 [葛 敏, 赵红卫, 吉 特, 余笑寒, 王文锋, 李文新. 中国科学 B(*Zhongguo Kexue B*), **2005**, **35**(6): 441]
- 12 Chen, Z. Q.; Yu, Y. *Journal of Pediatric Pharmacy*, **2005**, **11**(1): 12 [陈志琼, 余 瑜. 儿科药理学杂志(*Erke Yaoxue Zazhi*), **2005**, **11**(1): 12]
- 13 Kean, W. F.; Lock, C. J. L.; Howard-Lock, H. E. *The Lancet*, **1991**, **338**: 1565
- 14 Gotti, R.; Pomponio, R.; Andrisano, V.; Cavrini, V. J. *Chromatography A*, **1999**, **844**: 361
- 15 Darrow, J. T.; Zhang, X. C.; Auston, D. H.; Fellow; IEEE; Morse, J. D. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, **1992**, **28**(6): 1607
- 16 Wu, Q.; Zhang, X. C. *Appl. Phys. Lett.*, **1995**, **67**(24): 3523
- 17 Howard-Lock, H. E.; Lock, C. J. L.; Smalley, P. S. *J. Cryst. Spectr. Res.*, **1983**, **13**(5): 333
- 18 Drogoman, D.; Dragroman, M. *Optical characterization of solid*. Berlin: Springer, 2002