

血卟啉衍生物分子的激光喇曼光谱

刘颂豪 李唤玲* 陈建华 徐文浩 邓玉妹

张伟 张晶如 惠令凯

(中国科学院安徽光机所)

提要: 本文报道了用激光喇曼散射法测定三种血卟啉衍生物** (HpD) 样品的喇曼光谱。它们大多处在 $570\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ 之间。疗效不同的 HpD 的喇曼谱线位置有一定的差异,反映了卟啉环可能连接有不同的侧链;同一种 HpD 在不同溶剂中的谱线位置及强度不同,说明不同溶剂分子与样品分子有不同的作用。

Laser Raman spectra of hemotoporphyrin derivative molecules

Liu Songhao, Li Huanling, Chen Jianhua, Xu Wengjie, Deng Yumei

Zhang Wei, Zhang Jinru, Hui Lingkai

(Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Academia Sinica)

Abstract: This paper reports laser Raman studies for determination of three samples of hemotoporphyrin derivatives. It has been shown that most of Raman spectra occur between 570 cm^{-1} and 1640 cm^{-1} . The Raman frequencies of samples having different curative effect show a little difference. This probably indicates that porphyrin rings connect different sidechain.

一、引言

目前,激光喇曼光谱在生物大分子领域里的研究日趋活跃,特别是对卟啉^[1]、核酸^[2]、血红蛋白等^[3]。但是对用于诊治癌症的光敏药物——血卟啉衍生物的激光喇曼光谱的研究工作至今未见报道。自从1966年Lipson、Gray等人^[4]首先把HpD用于临床诊治癌症以来,各国的研究工作发展很快。疗效不同的HpD的激光喇曼光谱,可为制药部门提供有关HpD分子结构与疗效关系的信息。我

们的研究还发现,当HpD处于不同环境(溶剂)中时,激光喇曼光谱也不相同,这对临床治疗具有一定的参考价值。血卟啉分子由八十多个原子所组成,分子长度为 8.5 \AA ,厚度为 4.7 \AA ^[5]。如此之大的分子其振动频率是非常复杂的。因此,通过喇曼光谱的测试来找出分子的振动频率,获得各谱线对应的分子结构振动归属,并对了解被测分子的结构及结构变化是很有效的。

收稿日期:1984年8月17日。

* 广州中山大学物理系。

** 三种样品依次以I、II、III编号,下同。

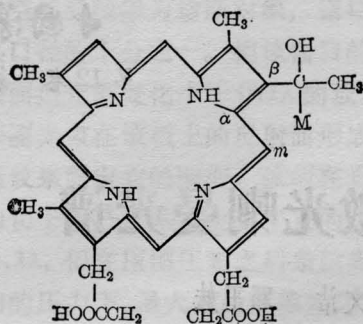


图1 HpD的分子结构式

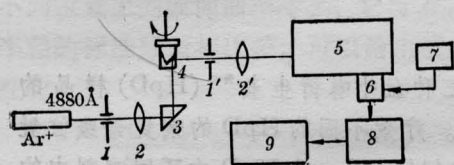


图2 实验布置示意图

1、1'—光阑；2、2'—透镜；3—全反棱镜；4—旋转样品池；5—光栅双单色仪；6—光电倍增管；7—高压电源；8—相敏放大器；9—笔式记录仪

二、实验

(1) 样品配制：HpD是由四个吡咯环通过四个桥碳烯连接组成的空心大环(图1所示)。环上八个碳的位置上连接有不同的侧链。HpD表观看来是一种深红色结晶粉末，易溶于乙醇、丙酮；难溶于乙醚、氯仿；不溶于水。可按常规操作配制样品。在溶剂中加入一定量的碘化钾溶液，以猝灭因激光激励样品而发出的荧光。HpD按每毫升2ng浓度配制。三种溶剂分别为0.1克分子的磷酸缓冲液(以下简称PBS)，pH值=7.4，分析纯乙醇，分析纯丙酮。

(2) 实验布置

实验布置如图2所示，测定灵敏度为 10^{-5} M；重复性 $\pm 1\text{cm}^{-1}$ ；氩激光器488nm单线输出功率为300mW；GDM-1000光栅双单色仪狭缝宽度 $300\mu\text{m}$ ；M12FC51光电倍增管阳极电压900V；相敏放大器放大倍数为500；样品池转速为2000转/mim。

三、实验结果和讨论

紫外可见吸收曲线表明HpD在中性溶剂中的五个吸收峰在402、498、532、569、622nm。我们的激发光波长处在 $\pi-\pi^*$ 电子跃迁吸收带上，所以对卟啉环 π 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{N}$ 、 $\text{C}-\text{O}$ 等键的振动得到了增强。

(1) 从图3和与之对应的表1中可见HpD-I在不同溶剂中谱线变化的情况。

(a) HpD-I在PBS溶剂中出现频率为962、992、1192、1342 cm^{-1} 的振动在乙醇、丙酮溶剂里产生了很大的差异，这说明不同的溶剂对样品侧链的振动有很大的影响。

(b) HpD-I在不同溶剂中表征
 $\nu(\text{C}=\text{C})^{[6]}$ 和 $\nu(\text{C}=\text{N})^{[6]}$

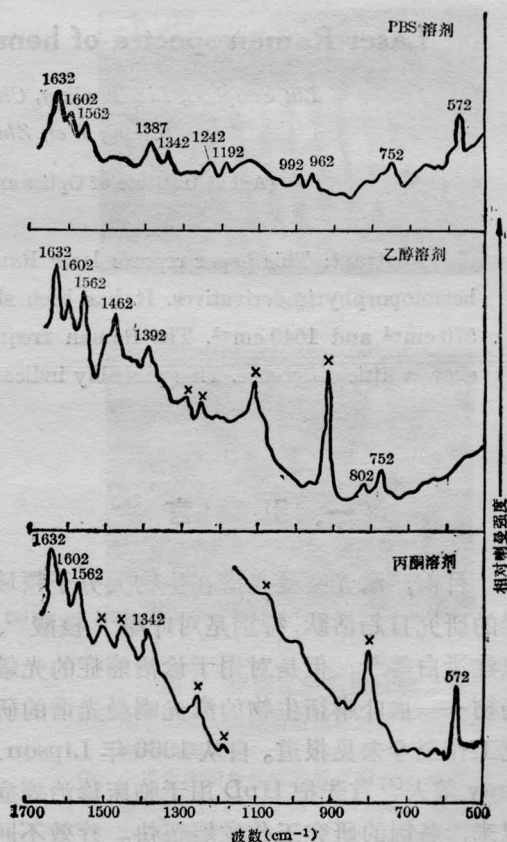


图3 HpD-I在不同溶剂中的喇曼谱图

“×”为溶剂本身的特征谱线

表1 HpD-I 在不同溶剂中的喇曼谱线

PBS $\Delta\nu, \text{cm}^{-1}$	<i>I</i>	乙醇 $\Delta\nu, \text{cm}^{-1}$	<i>I</i>	丙酮 $\Delta\nu, \text{cm}^{-1}$	<i>I</i>
572	s			572	s
752	w	752	m	812	—
		802	w		
		892	—		
962	vw				
992	vw	1062	—		
1192	w			1072	—
1242	w	1252	—	1252	—
		1292	—	1342	m
1387	m	1392	m	1372	—
		1462	s	1442	—
1562	m	1562	s	1562	s
1602	s	1602	s	1602	s
1632	vs	1632	vs	1632	vs

表中 vs—很强；s—强；m—中等；w—弱；vw—很弱，下同。

表2 三种样品在 PBS 溶剂里的喇曼谱线

HPD-I $\Delta\nu, \text{cm}^{-1}$	<i>I</i>	HPD-II $\Delta\nu, \text{cm}^{-1}$	<i>I</i>	HPD-III $\Delta\nu, \text{cm}^{-1}$	<i>I</i>
572	s	572	s	572	s
752	w	752	m	772	w
				812	w
962	vw				
992	vw				
1192	w				
1242	w	1242	w	1332	m
1387	m	1382	m	1382	m
		1432	m		
		1502	w	1492	m
1562	m	1562	s	1562	s
1602	s	1602	s	1602	s
1632	vs	1632	vs	1632	s

键振动的 1562、1602、1632 cm^{-1} 都出现了，这说明不同的溶剂对样品的双键振动影响较小。

(c) 表征 $\nu(\text{Fe}-\text{O}_2)^{[6]}$ 振动的谱线 572 cm^{-1} 在乙醇溶剂中没有出现，这是由于乙醇分子中的羟基与卟啉环中心 $\text{Fe}-\text{O}_2$ 结构中的 O_2 有很强的相互作用所致。

总之，不同的溶剂分子与样品分子有不同的作用。它使分子的某些振动得到不同程

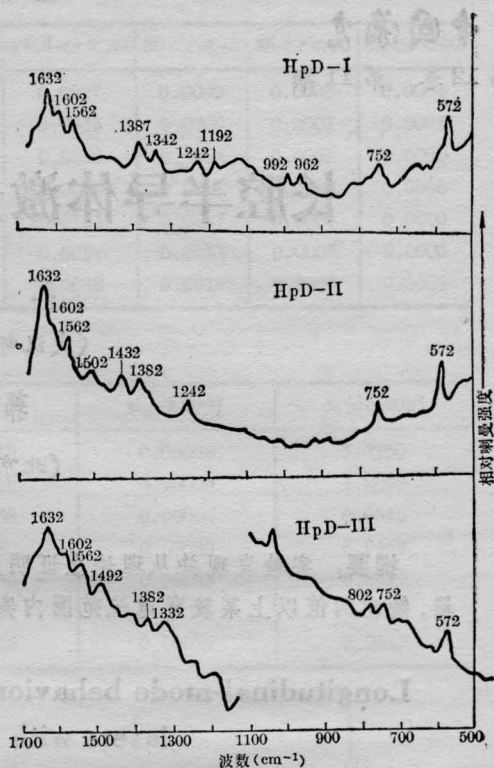


图4 三种 HpD 在 PBS 溶剂中的喇曼谱图

度的增强或减弱。可以认为：不同溶剂对 HpD 侧链影响较大，而对环结构影响不大。另外乙醇溶剂对表征 $\nu(\text{Fe}-\text{O}_2)$ 振动的谱线有明显影响。

(2) 从图 4 和与之对应的表 2 中可见三种 HpD 在 PBS 溶剂中的喇曼谱线变化情况。

(a) 表征 $\nu(\text{Fe}-\text{O}_2)$ 振动谱线 572 cm^{-1} ；表征 $\nu(\text{C}=\text{C})$ 和 $\nu(\text{C}=\text{N})$ 振动的谱线 1562、1602、1632 cm^{-1} 都有出现，并在谱线空间位置上显示出较强的相关性，从而说明三种样品有相同的环结构。

(b) 实验证实三种样品在表征 $\nu(\text{Fe}-\text{O}_2)$ 振动的 572 cm^{-1} 处都有谱线出现，这说明所测样品的卟啉环中心有铁离子出现。这个结果违背了“HpD 是空心卟啉结构”的报道(见图 1)。

(c) 将疗效较高的 HpD-II 与其它两种样品作一比较，发现 HpD-II 样品表征侧链

(下转第 657 页)

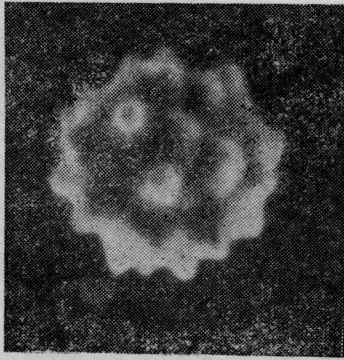


图4 激光辐照后,电镜观察辐照株的单孢子表面结构
(15000×14)

还在于得到了产量提高10%以上的高产菌株,其单孢子表面结构经电镜观察,未发现孔穴或表面结构异常变化,这和徐浩等人用二氧化碳激光辐照枯草杆菌AS1.831后扫描电镜观察无明显可见的损伤或孔洞的结果相类似^[2]。大多数激光辐照株其庆大霉素

小组分组比例及Rf值与原出发株相似,其中得到了有效小组分c₁含量提高而c₂含量相应下降的新菌株。有人在用⁶⁰Co辐照小单孢菌时,得到了高产菌株,但未报道有效小组分c₁含量增高而c₂含量下降的变化^[3]。

看来,用铜蒸气激光辐照棘孢小单孢菌,对提高抗生素的产量及其有效小组分的含量方面已展示了应用的前景。激光辐照作为微生物育种的手段,是值得推广应用的。

对物理系的周一江、季建宝及激光组其他同志支持与帮助激光辐照;浙江省电镜室张来友同志帮助电镜拍照,深表谢意。

参 考 文 献

- [1] Arie Rosner *et al.*; *J. Antibiotics*, 1980, **33**, No. 6, 600~603.
- [2] 徐浩等;《微生物学报》1978, **18**, No. 1, 71~75.
- [3] 林玲等;《抗生素》, 1984, **9**, No. 2, 138~139.

(上接第663页)

上基团振动的1432 cm⁻¹有谱线出现,它可归属为ν(C—O)+δ(C—H)^[6]的振动。另外表征ν(C—O)^[6]振动的谱线1502 cm⁻¹也出现,这是其余两种样品所没有的,它是与其它二种样品不同的侧链基团的振动,也是HpD-II较之其它样品疗效高的主要原因之一。对谱线中出现表征ν(Fe—O₂)振动的572 cm⁻¹的原因,估计有二种可能:(i)样品在制备时动物全血中的铁未移净;(ii)样品在制备过程中不慎掺进了铁离子。

谨向对完成此文给予热忱帮助和有益讨论的刘厚祥、王振亚、孙凤仪、袁唤标等同志

表示衷心的感谢。

参 考 文 献

- [1] S. Asher, K. Sauer; *J. Chem. Phys.*, 1976, **64**, 4115.
- [2] L. Chinsky, P. Y. Turpin; *Biopolymers*, 1978, **17**, 1347.
- [3] L. D. Barrm, A. Szabo; *J. Amer. Chem. Soc.* 1975, **97**, 660.
- [4] R. L. Lipson, M. J. Gray; *Proc. 9th Internat. Cancer. Congr.*, 1966, p. 393.
- [5] J. E. Falk; *Porphyryns and Metalloporphyryns*, New York, 1964.
- [6] J. M. J. R. Kincaid; *J. Amer. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 6078.