

鹰嘴豆芽素 A 的太赫兹光谱研究

杨玉平 邹斌 陈笑 冯帅

(中央民族大学理学院, 北京 100081)

摘要 运用太赫兹时域光谱 (THz-TDS) 技术与理论模拟相结合的方法研究了鹰嘴豆芽素 A 在太赫兹 (THz) 波段的光谱特性。在室温真空环境中得到样品在 0.5~2.4 THz 波段的功率吸收谱, 特征吸收峰分别位于 0.86, 1.15, 1.60, 1.74, 2.12 和 2.28 THz 处。同时借助密度泛函理论 (DFT)/6-31G* 基组计算了气态鹰嘴豆芽素 A 的分子结构及其在 THz 波段的振动频率, 并据此对实验光谱吸收峰进行指认。结果表明, 理论计算结果与实验数据符合得很好, 在 0.5~2.4 THz 波段内的共振吸收峰主要源于分子的集体振动。该研究有助于进一步理解鹰嘴豆芽素 A 的生物作用。

关键词 光谱学; 太赫兹时域光谱; 密度泛函理论; 振动模式; 鹰嘴豆芽素 A

中图分类号 O434 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/AOS201131.s100502

Terahertz Spectroscopy of Biochanin A

Yang Yuping Zou Bin Chen Xiao Feng Shuai

(School of Science, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

Abstract Theoretical and experimental vibration spectra of biochanin A in frequency range from 0.5 to 2.4 THz are investigated. Under room temperature and vacuum conditions, the absorption peaks were observed at 0.86, 1.15, 1.60, 1.74, 2.12 and 2.28 THz. In parallel with experimental study, 6-31G* basis set and density functional theory (DFT) are applied to obtain structure and vibrational frequencies of isolated genistein molecule at gas phase. The observed vibrational spectra are assigned according to DFT calculations. Results show that theoretical calculations are in good agreement with experimental data. The observed vibrational peaks in frequency range of 0.5~2.4 THz are mainly induced by collected vibrations of molecule. The research is helpful to understand the role of biochanin A in biological reactions.

Key words spectroscopy; terahertz time-domain spectroscopy; density functional theory; vibrational mode; biochanin A

OCIS codes 300.6495; 170.6795; 170.6280

1 引 言

鹰嘴豆芽素 A 属于黄酮类化合物, 化学名称是 5,7-二羟基 4'-甲氧基异黄酮, 主要存在于红三叶等豆科多年生草本植物中, 具有抗肿瘤、抗癌和抗白血病等多种作用^[1~4]。然而, 目前对鹰嘴豆芽素 A 的抗肿瘤机制尚不清楚, 对其构效关系和稳定性等也缺乏全面的认识。黄酮类物质的远红外光谱 (0.2~20 THz) 包含着丰富的光谱和结构信息, 黄酮类分子的许多分子内振动和转动跃迁以及晶体中晶格的低频振动等都位于这一波段^[6,7]。因而利用远红外振动光谱研究鹰嘴豆芽素 A 的光谱特性具有重要意义。

太赫兹时域光谱 (THz-TDS) 技术是基于飞秒超快激光技术的远红外波段光谱测量新技术, 它利用物质对太赫兹 (THz) 辐射的特征吸收来分析物质成分、结构及其相互作用^[8]。THz 光谱测量技术的高信噪比和单个 THz 脉冲的宽频带特性, 使得 THz 技术能够对材料组成及结构的细微变化做出分析和鉴定^[9]。与传统的傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 相比, THz-TDS 是同步相干探测, 对热背景噪声不敏感, 可以获得很高的信噪比, 且不需要热辐射探测器。更重要的是, THz-TDS 无需使用 Kramers-Kronig 色散关系就可以获得物质的折射

收稿日期: 2010-08-21; 收到修改稿日期: 2010-11-03

基金项目: 国家民委科研基金 (09ZY012) 和国家自然科学基金 (10904176) 资助课题。

作者简介: 杨玉平 (1976—), 女, 博士, 副教授, 主要从事太赫兹光谱与成像等方面的研究。E-mail: ypyang_cun@126.com

率和吸收系数。因此,THz-TDS 技术被广泛应用于化学生物分子,诸如蛋白质、糖类、氨基酸和爆炸性物质等^[10~13],在 THz 波段的光学特性研究。

本文利用 THz-TDS 技术测量了鹰嘴豆芽素 A 在 0.5~2.4 THz 波段的吸收光谱,同时运用密度泛函理论(DFT)对该化合物的结构进行了优化分析,并在此基础上对其在 THz 波段的振动频率进行了指认和初步探讨。

2 材料和实验方法

2.1 实验装置

图 1 是鹰嘴豆芽素 A 的分子结构图,可以看出,鹰嘴豆芽素 A 分子为 C₆ (A 环)-C₃ (C 环)-C₆ (B 环)结构,其中含有羟基和羰基的苯并吡喃环(A 环和 C 环)被认为是鹰嘴豆芽素 A 抗癌活性的重要基团^[5]。实验中采用标准的 THz-TDS 系统测量 THz 波通过鹰嘴豆芽素 A 的透射特性^[14]。中心波长为 800 nm,重复频率为 82 MHz,脉宽为 100 fs,平均功率为 960 mW 的掺钛蓝宝石激光器作为激发光源;THz 脉冲的产生和探测由〈110〉晶向的 ZnTe 晶体实现。飞秒激光脉冲经分束棱镜(CBS)被分为两束,一束作为产生 THz 脉冲的抽运光,另一束作为探测 THz 脉冲的探测光。抽运光经斩波器调制后激发〈110〉晶向的 ZnTe 晶体,通过光整流机制产生 THz 电磁辐射脉冲。探测光束和产生的 THz 电磁脉冲共线经过〈110〉晶向的电光晶体 ZnTe。THz 电磁辐射脉冲的电场通过线性电光效应调制电光晶体 ZnTe 的折射率椭球,使探测脉冲的偏振态发生改变,通过偏振检测即可得到正比于 THz 电场的电信号。延迟装置通过改变探测光与产生光间的光程差,使探测光在不同的时刻对 THz 脉冲的电场强度进行取样测量,最后获得 THz 脉冲电场强度的时域波形。实验过程中为了降低空气中水分对 THz 波的吸收,THz 辐射信号的产生和探测部分全部置于真空箱中。

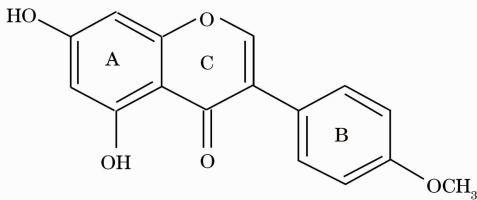


图 1 鹰嘴豆芽素 A 分子结构示意图

Fig. 1 Molecular structure of biochanin A

2.2 样品制备

实验所用的鹰嘴豆芽素 A 样品购于 Sigma 公司,为多晶粉末,纯度大于 98%,使用之前未经过进一步纯化处理。为了精确地测量样品的厚度和功率吸收系数,将粉末加在两片高质量的聚四氟乙烯片之间(样品厚度为 0.5 mm、聚四氟乙烯厚度为 2 mm),形成由聚四氟乙烯-样品-聚四氟乙烯结构的三明治样品池,用于样品光谱测量。同时选用统一聚四氟乙烯片,组成聚四氟乙烯-空气-聚四氟乙烯三明治式参考池,用于参考光谱测量。图 2 为参考池与样品池的结构。

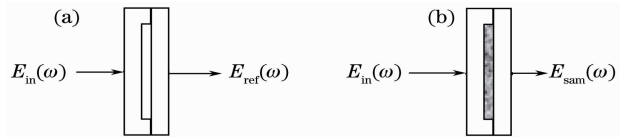


图 2 (a)由聚四氟乙烯-空气-聚四氟乙烯构成的三明治式参考池,(b)由聚四氟乙烯-样品-聚四氟乙烯构成的三明治式样品池

Fig. 2 (a) Structure of teflon-air-teflon cell for reference, (b) structure of teflon-sample-teflon cell for sample

3 结果与讨论

3.1 鹰嘴豆芽素 A 的 THz 时域光谱

图 3 为 THz 波穿过参考池和样品池的时域电场波形。由于聚四氟乙烯片的厚度较大并且折射率较小,在时域脉冲的主脉冲与第一次反射及测试池的多次反射是完全分开的,因此在数据分析时不考虑测试池反射。综合考虑图 2 所示的参考池和样品池的结构,则经过参考池和样品池的 THz 脉冲傅里叶变换光谱 $E_{ref}(\omega)$ 和 $E_{sam}(\omega)$ (图 3 插图)的表达式分别为

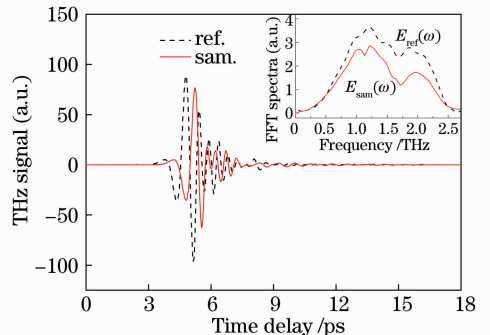


图 3 穿过参考池和样品池的透射 THz 时域波形 (插图是相应的傅里叶变换谱)

Fig. 3 Reference signal of teflon-air-teflon cell (dashed line) and propagated THz pulses through teflon-sampler-teflon cell (solidline) (The inset is corresponding Fourier transformed amplitude spectra)

$$E_{\text{ref}}(\omega) = E_{\text{in}}(\omega)t_{\text{ta}}t_{\text{at}}\exp\left(\frac{i2\pi n_0 d}{\lambda_0}\right) = E_{\text{in}}(\omega)t_{\text{ta}}t_{\text{at}}\exp(ik_0 d), \quad (1)$$

$$E_{\text{sam}}(\omega) = E_{\text{in}}(\omega)t_{\text{ts}}t_{\text{st}}\exp\left(\frac{i2\pi n_s d}{\lambda}\right)\exp\left(\frac{-i\alpha d}{2}\right) = E_{\text{in}}(\omega)t_{\text{ts}}t_{\text{st}}\exp(ikn_s d)\exp(-i\alpha d/2), \quad (2)$$

式中 $E_{\text{in}}(\omega)$ 是入射脉冲光谱, $k_0 = 2\pi/\lambda_0$ 和 $k = 2\pi n_s/\lambda$ 分别是 THz 波在空气和样品中的波数; n_0 和 n_s 分别是空气与被测样品的折射率, d 是被测样品组织的厚度, α 是被测样品的功率吸收系数; t_{ta} , t_{at} , t_{ts} 和 t_{st} 是样品各界面 THz 脉冲的频域透射系数。4 个界面分别是: 聚四氟乙烯-空气(t_{ta})、空气-聚四氟乙烯(t_{at})、聚四氟乙烯-样品(t_{ts}) 和样品-聚四氟乙烯(t_{st})。由菲涅耳公式, 可以分别给出

$$\begin{aligned} t_{\text{ta}} &= \frac{2n_t}{n_0 + n_t}, & t_{\text{at}} &= \frac{2}{n_0 + n_t}, \\ t_{\text{ts}} &= \frac{2n_t}{n_s + n_t}, & t_{\text{st}} &= \frac{2n_s}{n_s + n_t}, \end{aligned} \quad (3)$$

式中 t_{ts} , t_{st} 和样品有关, 依赖于波频率变化的复传输系数, n_s 和 n_t 分别是被测样品和聚四氟乙烯材料的折射率, $n_0 = 1$ 代表空气折射率。综合(1)~(3)式, 可以求出功率吸收系数 $\alpha(\omega)$ 。

图 4 给出了室温下鹰嘴豆芽素 A 在 0.5~2.4 THz 范围内的吸收谱。可以看出, 随着频率的增加, 样品的吸收谱基线出现缓慢的上升, 这可能是由于光散射或样品宽而无结构的吸收所引起。鹰嘴豆芽素 A 粉末在 1.15, 1.60 和 1.74 THz 处有明显的吸收峰, 在 0.86, 2.12 和 2.28 THz 处有较弱的吸收峰。

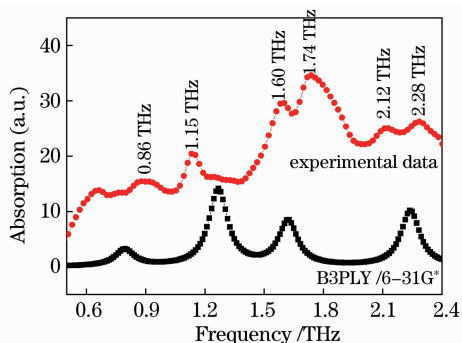


图 4 鹰嘴豆芽素 A 实验光谱与计算结果的对比

Fig. 4 Predicted vibrational frequencies by B3LYP/6-31G* together with experimental data for Biochanin A

3.2 DFT 计算与分析

为更好地理解实验光谱产生的理论机理, 我们运用 Gaussian03 程序包对鹰嘴豆芽素 A 分子进行了第一性原理计算。采用密度泛函理论的从头计算方法, 在 6-31G* 基组水平上, 对鹰嘴豆芽素 A 单体基态的平衡几何构型和能量进行优化; 并用 B3LYP

方法(即将包含梯度修正的 Becke 交换泛函和包含梯度修正的 Lee, Yang 和 Parr 相关泛函联系在一起)研究了鹰嘴豆芽素 A 的正则振动频率、红外光谱强度和拉曼光谱强度。分子结构经过优化没有虚频出现, 说明该几何结构为分子的最小能量结构。优化后的计算结果显示, 鹰嘴豆芽素 A 具有 C_1 点群对称。鹰嘴豆芽素 A 分子中的苯并吡喃环(A 环与 C 环)呈平面结构。而另外一个苯环(B 环)则与该平面之间有一些扭转, 二面角约为 -150° 。

图 4 给出了鹰嘴豆芽素 A 的 THz 实验光谱和理论计算吸收光谱的对照图。由图可以看出, 理论计算与实验结果符合较好, 在 0.5~2.4 THz 范围内理论计算的 4 个吸收峰 0.79, 1.26, 1.62 和 2.24 THz 与实验测得 0.86, 1.15, 1.60 和 2.28 THz 比较接近。还可以看出, 理论光谱相对于实验光谱有一点不规则的偏移, 原因是实验是在室温下进行的, 而理论计算没有将这种热效应考虑在内。另外, 1.74 THz 和 2.12 THz 处的吸收峰没有理论计算值与其对应, 这可能是由于理论计算体现的是气态状况且是单分子行为, 而实验样品是晶体, 未考虑分子之间的相互作用和氢键的作用, 同时实验结果还会受环境等因素的影响^[15]。

基于 B3LYP/6-31G* 的计算结果, 借助可视化软件 Molekel 对实验所测鹰嘴豆芽素 A 在 THz 波段的振动模式进行了指认。可以看出, 0.5~2.4 THz 波段的振动光谱主要来源于苯并吡喃环(A 和 C 环)和 B 环的面内扭动和面外摇摆运动引发的复杂振动, 其振动模式主要包括甲基的振动, C-C 键的变形振动(如键的扭曲、弯曲、转动等模式), 以及苯并吡喃环和 B 环之间二面角的变化等。图 5 是从鹰嘴豆芽素 A 分子振动输出文件中提取的分子构像图。其中图 5(a)为频率 1.60 THz 的集体振动模式, 图 5(b)为频率为 2.12 THz 的集体振动模式, 箭头表示转动方向。鹰嘴豆芽素 A 在 1.60 THz 的吸收为苯并吡喃环(A 和 C 环)以 C8-C11 键为轴做面外摇摆运动, 而 B 环则以 C8-C11 键为轴做反向的面外摇摆运动。2.28 THz 处的吸收主要是苯并吡喃环(A 和 C 环)相对于 C8-C11 键的垂线做面内扭动, 同时 B 环则相对于该垂线做反向的面内扭动。

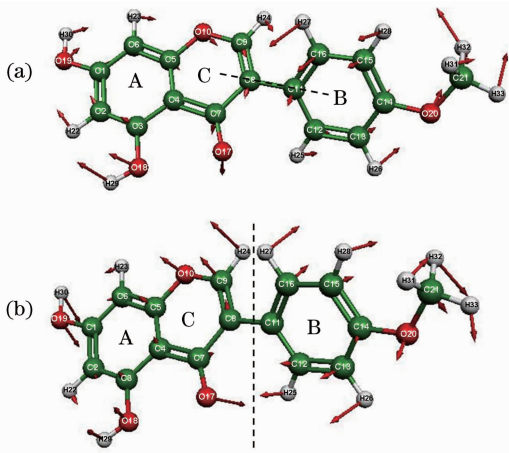


图 5 鹰嘴豆芽素 A 在(a) 1.60 THz 和(b) 2.24 THz 处的振动模式

Fig. 5 Vibration modes of biochanin A at (a) 1.60 THz and (b) 2.24 THz predicted by DFT/6-31G*

4 结 论

利用 THz-TDS 技术测量了鹰嘴豆芽素 A 晶体在 0.5~2.4 THz 波段的功率吸收谱,同时运用 DFT 研究了该分子的几何结构及其在 THz 波段的振动频率,在 B3LYP/6-31G* 水平上计算所得的振动频率与实验光谱符合得很好。基于 DFT 的计算结果对实验光谱的振动频率进行了指认。研究表明,鹰嘴豆芽素 A 在 THz 波段的吸收峰是由于苯并吡喃环(A 环与 C 环)和 B 环的面内扭动和面外摇摆运动引发的复杂振动。

参 考 文 献

- 1 A. B. Hendrich, J. Zugaj, K. Michalak. Biochanin A similarly influences the fluidity of liposomes formed from charged and zwitterionic lipids[J]. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 2002, **7**(2): 284
- 2 O. Sklenickova, J. Flesar, L. Kokoska *et al.*. Selective growth inhibitory effect of biochanin A against intestinal tract colonizing bacteria[J]. *Molecules*, 2010, **15**(3): 1270~1279

- 3 Takahiko Gotoh, Kazumasa Yamada, Hong Yin *et al.*. Chemoprevention of N-nitroso-N-methylurea-induced rat mammary carcinogenesis by soy foods or biochanin A[J]. *Jpn J. Cancer Res.*, 1998, **89**(2): 137~142
- 4 Fumiuyuki Goto, Toshihiro Yoshihara, Naoki Shigemoto *et al.*. Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene[J]. *Nature Biotechnology*, 1999, **17**(3): 282~286
- 5 Fabrizio Spinozzi, M. Cristina Pagliacci, Graziella Migliorati *et al.*. The natural tyrosine kinase inhibitor genistein produces cell cycle arrest and apoptosis in Jurkat T-leukemia cells [J]. *Leuk Res.*, 1994, **18**(6): 431~439
- 6 Zhang Liming, Zhao Xi, Gao Wenyuan. Extraction and FT-IR spectral identification of flavonoids extracted from the buds of *sophora japonica* linn [J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2007, **27**(B10): 60~64
张黎明, 赵 希, 高文远. 红外光谱技术在槐米总黄酮提取过程中的应用[J]. *林产化学与工业*, 2007, **27**(B10): 60~64
- 7 Li Qingyu, Si Minzheng, He Xi *et al.*. Analysis of five erigeron *breviscapus* with medical function by FT-IR [J]. *J. Light Scattering*, 2008, **20**(3): 286~288
李清玉, 司民真, 贺 熹 等. 五种灯盏细辛药材的红外光谱对比分析[J]. *光散射学报*, 2008, **20**(3): 286~286
- 8 B. M. Fischer, Mwalther, P. Uhd Jepsen. Far-infrared vibrational modes of DNA components studied by terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Phys. Med. Biol.*, 2002, **47**(21): 3807~3814
- 9 Y. L. Shi, L. Wang. Collective vibrational spectra of α - and γ -glycine studied by terahertz and Raman spectroscopy [J]. *J. Physics D: Appl. Phys.*, 2005, **38**(19): 3741~3745
- 10 M. Nagel, P. H. Bolivar, M. Brucherseifer *et al.*. Integrated THz technology for label-free genetic diagnostics [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2002, **80**(1): 154~156
- 11 S. Sree Harsha, D. Grischkowsky. THz (far infrared) characterization of Tris (hydroxymethyl) aminomethane (TRIS) using high resolution waveguide THz-TDS [J]. *J. Phys. Chem. A*, 2010, **114**(10): 3489~3494
- 12 Joseph S. Melinger, S. Sree Harsha, N. Laman *et al.*. Guided-wave THz spectroscopy of molecular solids [J]. *J. Opt. Soc. Am. B.*, 2009, **26**(9): A79~A89
- 13 Q. L. Zhou, C. L. Zhang, K. J. Mu *et al.*. Optical property and spectroscopy studies on the explosive 2,4,6-trinitro-1,3,5-trihydroxybenzene in the terahertz range [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2008, **92**(10): 101106~101108
- 14 H. Chen, Y. Qu, W. X. Peng *et al.*. Investigation of guanidine hydrochloride induced chlorophyll protein 43 and 47 denaturation in the terahertz frequency range [J]. *J. Appl. Phys.*, 2007, **102**(7): 074701~074703
- 15 Y. Q. Chen, H. B. Liu, Y. Q. Deng *et al.*. THz spectroscopic investigation of 2,4-dinitrotoluene [J]. *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **400**(4-6): 357~361