第31卷, 第6期
2011年6月

光 谱 学 与 光 谱 分 析
Spectroscopy and Spectral Analysis

Vol. 31, No. 6, pp1541-1544
June, 2011

异硫氰基-孔雀石绿的拉曼光谱计算及分析

郭沫然, 蔡红星, 陈 高, 范 雅, 张喜和*

长春理工大学国际纳米光子学与生物光子学联合研究中心, 吉林 长春 130022

摘 要 异硫氰基-孔雀石绿(malachite green isothiocyanate, MGITC)是应用于细胞探测, 生物组织成分分析和细胞成像等方面的拉曼探针分子。本文首先给出了MGITC分子的结构图, 并用密度泛函(DFT)算法对其进行了空间结构优化; 然后分别用Hartree-Fock(HF)和MP2两种算法基于STO-3G基组计算了它的拉曼光谱与红外光谱, 给出光谱强度图; 并对比了两种算法的拉曼光谱图和其实验光谱图, 结果显示了很好的一致性; 本文还给了MGITC分子中的各个原子键长, 键角等空间结构参数; 并对MGITC分子在550~4 200 cm^{-1}区间的振动谱做了指认。这些工作将促进MGITC作为探针分子在生物学领域的应用。

关键词 拉曼光谱; 理论拉曼光谱; 异硫氰基-孔雀石绿
中图分类号: O657.1 文献标识码: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)06-1541-04

引 言

MGITC是三苯甲烷类生物染色剂, 全称异硫氰基-孔雀石绿, 它的化学式是$C_{24}H_{25}N_3S$, 孔雀石类化合物。孔雀石绿[1]可加入多种分子团做标记, 如水合碱式碳酸铜, 草酸盐的结晶($2C_{23}H_{24}N_2$)等。MGITC分子是异硫氰基结合了孔雀石绿所构成的一种较新的拉曼探针分子, 它具有拉曼散射系数大, 拉曼光谱峰带窄, 峰值多的优点, 近年来在分子生物研究中获得了前所未有的重视。生物体系的组成成分非常复杂, 常见成分有蛋白质、脂肪、氨基酸、多肽、水、糖类等, 在这种体系中, 测量结果包含了多种成分的拉曼散射[2]。因此, 拉曼谱的解析需要知道准确的探针分子的拉曼谱图[3]。因此本文研究了MGITC分子的理论拉曼光谱[4], 给出了优化的MGITC分子的空间结构、基于Hartree-Fock(HF)和MP2两种算法的拉曼光谱和红外光谱、理论拉曼光谱与实验光谱图的对比, 空间结构参数、振动模指认等, 这些工作尚未见报道。

MGITC分子由3个苯环[5], 两个氨基(—NR_2)与一个异硫氰基(—NCS)组成, 摩尔质量为387.5 g·mol^{-1}, 外表具有光泽的结晶粉末; 易溶于水, 也能溶于乙醇、甲醇等。激发波长在红光和近红外波段, 这个波段十分接近部分生物成分的吸收波段, 且能与荧光区分开来[6]。由于异硫氰基的一端极易帖覆, 黏着在金、铜等金属粒子表面, 在这些金属表面等离子波的作用下, 与入射激光共振产生表面等离子体场的增强[7-9], 从而增强了拉曼信号——表面增强拉曼散射(surface-enhanced Raman scattering, SERS), SERS的应用大大扩展了MGITC作为拉曼探针分子的使用范围, 提高其分辨率[10-13]。同时, 基于避雷针效应的针尖增强拉曼散射(tip-enhanced Raman spectroscopy, TERS)也开始采用MGITC作为探针分子, 与SERS相比较, TERS提供了空间分辨率更高的探测手段[14, 15]。

如图1为MGITC分子的化学结构图。

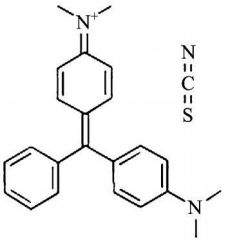

Fig 1 Structure of MGITC

1 理论计算

Gaussian计算软件基于第一性原理, 用于计算分子的能量结构、键和反应能、振动频率及红外和拉曼光谱等的半经典理论计算软件包。广泛应用于化学、化工、生物化学、物理化学等领域, 其计算结果获得了实验的检验和认可。本文

收稿日期: 2010-08-05, 修订日期: 2010-11-20
基金项目: 国家科技攻关课题项目(2007BA107A00-1)资助
作者简介: 郭沫然, 女, 1988年生, 长春理工大学理学院博士研究生 e-mail: gmr.1988@yahoo.com.cn
* 通讯联系人 e-mail: xihezhang@sina.com.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

计算了异硫氰基-孔雀石绿的拉曼光谱与红外光谱，我们先用泛函数理论(DFT)，包括 LSDA，BLPY，Becke 的三参数混合方法，根据对 MGITC 分子的空间结构进行优化[16]，优化后的空间结构如图 2 所示，其空间几何参数如表 1 所示，MGITC 分子中各原子的名称和编号如图 1 所示。然后分别采用 HF 方法，基组为 STO-3G 与基态的 MP2 的默认自旋 STO-3G 基组，计算了 MGITC 分子的振动谱，如图 3 所示。为了给出更多的拉曼光谱信息，我们均对光谱强度做了取对数处理，如图 4(a) 给出了 MGITC 在 0~ 1 800 cm^{-1} 的拉曼光谱强度的对数值；图 4(b) 给出了 1 800~ 4 200 cm^{-1} 的拉曼光谱强度对数值。

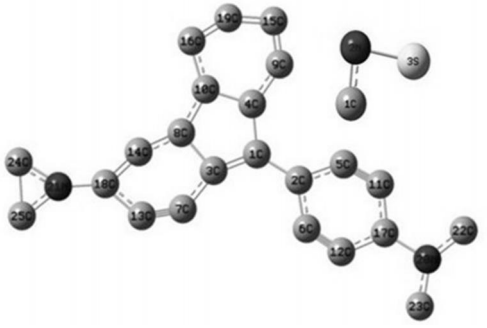

Fig 2 Optimozed geometry MGITC at DFT STO-3G levels

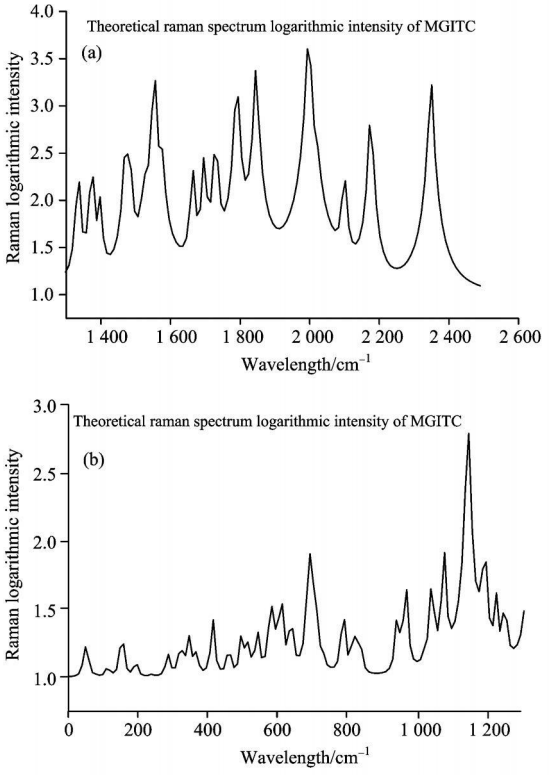

Fig 3 Theoretical Raman spectrum logari thmic intensity of MGITC at STO-3G levels in the 0~ 1 300 cm^{-1} (a) and 1 300~ 2 600 cm^{-1} (b)

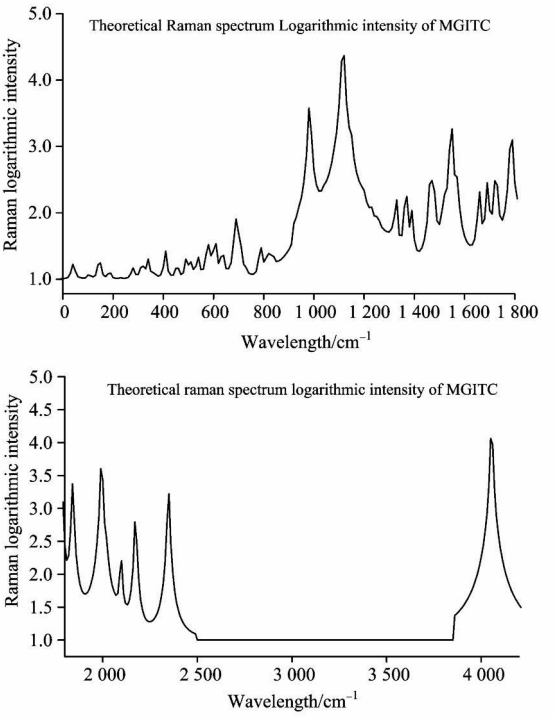

Fig 4 Theoretical Raman spectrum logari thmic intensity of MGITC at STO-3G levels in the 0~ 1 800 cm^{-1} (a) and 1 800~ 3 600 cm^{-1} (b)

我们所引用的 MGITC 分子拉曼光谱实验数据为其在水溶液中的测量结果，因此我们的计算也是选用了水环境，以便于对比。图 5 我们给出了 MGITC 分子的实验拉曼光谱与理论计算拉曼光谱之间进行了对比，从中可以看出，理论计算出的拉曼光谱与实验拉曼光谱具有很好的一致性。于此同时，我们也看到了谱线的一些微小的不同，产生不同的原因有两个方面：一个是由于量子化学的计算方法在处理几何平衡结构中，对力常数估计值过高而产生的影响，另一个是实验设备随机误差所带来的影响。

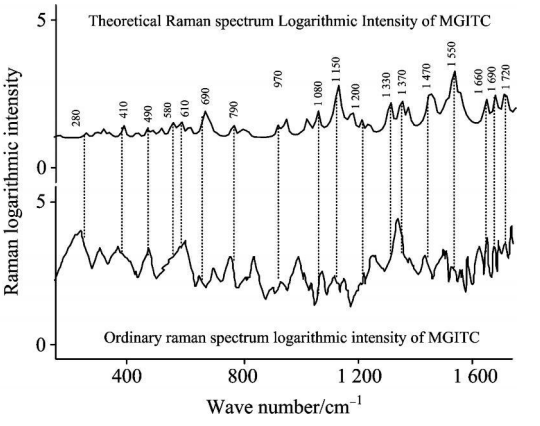

Fig 5 Comparison MGITC theoretical Raman and experimental ordinary Raman in the 180~ 1 800 cm^{-1} spectral range at incident wavelegth of 632 8 nm

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Table 1　Optimized geometrical parameters(DFT) MGITC, atom labeling is according to Fig 2 Bond is between the atom and its frontal atom　Angle is among the atom and its double frontal atoms.　Dihedral is among the atom and ternate frontal atoms

Symbol	Bond	Angle	Dihedral	UFF(Dreiding) Type
C_1				C_3
C_2	1.412 1			C_3
C_3	1.435 4	104.849 4		C_3
C_4	1.401 3	130.127 7	180	C_3
C_5	1.230 2	130.332 7	0	C_3
C_6	1.229 3	99.539 7	180	C_3
C_7	1.239 0	150.203 6	180	C_3
C_8	1.386 2	111.187 4	0	C_3
C_9	1.254 0	98.609 0	0	C_3
C_{10}	1.447 0	138.988 5	180	C_3
C_{11}	1.403 4	112.364 3	180	C_3
C_{12}	1.404 3	132.268 8	0	C_3
C_{13}	1.423 2	139.071 1	180	C_3
C_{14}	1.353 1	108.045 9	0	C_3
C_{15}	1.355 5	136.424 0	180	C_3
C_{16}	1.278 7	123.693 8	0	C_3
C_{17}	1.480 2	123.772 1	180	C_3
C_{18}	1.406 0	130.583 1	0	C_3
C_{19}	1.480 2	101.769 4	180	C_3
N_{20}	1.363 0	126.582 9	0	N_3
N_{21}	1.371 7	136.560 8	180	N_3
C_{22}	1.363 0	111.854 1	0	C_3
C_{23}	1.366 9	111.579 5	180	C_3
C_{24}	1.371 7	145.744 3	180	C_3
C_{25}	1.371 0	145.744 3	0	C_3
N_1(IS)	1.413 5	103.468 8	0	N_3
C_2(IS)	1.365 3	93.611 6	180	C_3
S_3(IS)	1.982 0	305.513 2	180	S_3+6(S_3)

2　分析与讨论

2.1　MGITC 分子的晶格结构

经过 Gaussian 计算优化后的 MGITC 分子为三维平面结构。如图 2 所示，MGITC 由一个正离子 $C_{23}H_{25}N_2^+$ 与一个异硫氰基所组成。其中正离子 $C_{23}H_{25}N_2^+$ 为中心碳连 3 个苯，其中两个苯分别连接带有两个碳的 N_{20} 与 N_{21}，另一个苯连接异硫氰基。而连接 N_{21} 的苯中的 C_8 又与连接异硫氰基的 C_{10} 相连，形成环戊烷[C_1—C_4—C_{10}—C_8—C_3]。图表 1 中心碳(C_1)与相邻的 C_2，C_3，C_4 中 C_2 所在苯环为角对称 C_3 较短因为双键，键能较高，其中 C_2 所在的苯环 1 较对称有原子 C_5，C_6，C_{11}，C_{12}，C_{17}，N_{20}，C_{22}，C_{23}，其中 C_5，C_6 与 C_{11}，C_{12} 间键角较大，且为三价键。是所得出的原子间最短键长，键能较大。C_3 所在苯环 2 有原子 C_7，C_8，C_{13}，C_{14}，N_{21}，C_{24}，C_{25}，其中 C_7 与 C_{13} 同为三价键，仅小于 C_5，C_6 与 C_{11}，C_{12} 的键长。C_4 所在的苯环 3 连接异硫氰基，并无高能键。键能和相应的键长均在实验误差内。C—C 键的平均键长为 0.138 3nm，与大家普遍认可的 0.139 nm 非常的接近。

Table 2　Calculated vibrational wavenumbers, measured Raman bands positions and assignments of MGITC

$V_{(mp2)}$/cm^{-1}	Raman activity	IR intensity	Assignments
576	31	6	$\nu_{H_{21}C_{18}}$
686	46	31	$\delta_{C_7C_{16}}$
691	38	1	$\nu_{N_{20}C_{17}}$
704	39	1	$\nu_{C_2C_5C_6}$
816	11	3	$\delta_{C_1C_4C_{10}}$
967	42	9	$\gamma_{O_{20}C_{17}}$
983	4 698	12	$\nu_{S_3N_2(IS)}$
1115	42 328	21	$\nu_{N_2C_1(IS)}$
1 465	442	399	$\delta_{C_3C_{16}C_{18}}$
1 547	2 508	297	$\nu_{C_3C_{17}}$
1 571	225	5	$\nu_{C_2C_{17}}$
1 658	200	163	$\delta_{C_2C_8}$
1 786	205 7	1 027	$\nu_{C_2C_3C_{10}}$
1 841	2 497	764	$\nu_{N_{21}C_{19}}$
1 994	6 497	43	$\delta_{N_{21}C_1}$
2 021	131	34	$\nu_{asC_5C_6C_{11}C_{12}}$
2 096	194	6	$\nu_{C_4C_9C_{15}}$
2 173	852	285	$\nu_{SC_7C_{13}}$
2 348	1 990	29	$\nu_{sC_5C_6C_{11}C_{12}}$
4 054	20 646	12 425	$\nu_{N_2C_1S_3(IS)}$

ν: Stretching; δ: In-plane bending; γ: Out-of-plane bending; τ: Torsion

2.2　光谱指认

MGITC 分子中各原子的名称和编号如图 2 所示，表 2 给出了其振动波数和振动模指认。表的 1, 2, 3 列分别给出了 Gaussian 计算的振动波数、拉曼活性和红外活性，各条谱线所对应的振动与对称信息在第四列，我们给出在 550~4 200 cm^{-1} 区间的振动数据做了指认。其中，在 704 与 816 cm^{-1} 的谱线上，中心碳 C_1 与周围 3 个碳 C_2，C_3，C_4 形成纵向的伸缩振动，而前者的在苯环 1 中的 C_2 的振动幅度相对更强，后者在苯环 3 中的振幅相对更强。在 576 与 691 cm^{-1} 产生拉曼光谱的振动中，都是 N_{21} 与 N_{20} 分子与相连的苯中的 C_{18} 与 C_{17} 产生纵向的伸缩与 C_{17} 的反向振动引起的。在第二个苯环中的振荡，我们观察到了光谱 2 173 cm^{-1} 是由 C_7 与 C_{13} 的横向牵引产生，其余三个光谱 1 786，1 841，1 994 cm^{-1} 有 N_{21} 与 C_{18} 单键牵引振动产生，这里我们看到 1 786 和 1 841 cm^{-1}，波段的光谱有环戊烷的振动参与，后者为 C_1 与 C_3 牵引剧烈。前者为 C_8 与 C_{10} 间牵引振动剧烈，其中也有在苯环 3 中的 C_{19} 参与。苯环 3 中所产生的波数 686 与 1 465 cm^{-1} 为 C_{16} 与相邻碳的牵引引起前者为纵向，后者为横向牵引，1 658 与 2 097 cm^{-1} 分别为 C_{19} 与 C_4 牵引振荡，与 C_{15} 的牵引振荡引起。而 C_{19} 就是连接异硫氰基原子。在产生最高拉曼光谱值的振荡由异硫氰基中的 N_1 与 S_1 和 C_1^* 的振荡在波数为 4 054 cm^{-1} 所产生，其余的 983 与 1 115 cm^{-1} 分别是 N_1 与 S_1，N_1 与 C_1^* 所产生的。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 结 论

在本文中, 我们首次报道了 MGITC 分子的理论计算拉曼光谱、空间结构参数和谱指认。采用 Gaussian03 软件包为计算工具, 优化了 MGITC 分子的空间结构参数, 分别用 MP2 与 HF 基于 STO-3G 基组算法给出了理论计算拉曼光谱与红外光谱, 并与实验数据进行了对照。同时对 MGITC 分子在 550~ 4 200 cm^{-1}区间的拉曼光谱振动数据进行了指认, 指出了其在相应的频移位置产生较强拉曼光谱的分子振荡模式。这项工作有利于对 MGITC 作为拉曼探针分子的更深层的理解, 以及 MGITC 这种新型的拉曼探针分子在生物化学领域中的应用。

致谢: 感谢国家科技攻关课题项目(项目号 2007BA107A09-1)的支持。感谢纽约州立大学布法罗分校在计算方面给予的帮助。

References

[1] Chesnoy J, A. Mokhtari A. Phys. Rev., 1988. A38: 3566.
[2] Chern L, Prohofsky E W. Phys. Rev., 1993, E47: 4483.
[3] Bruno Pettinger, Bin Ren, Gennaro Picardi, et al. J. Raman Spectrosc, 2005, 36: 541.
[4] Pagès O, Postnikov A V, Chaf A, et al. Phys. J. B, 2010, 73: 461.
[5] Ye Jingyong, Toshiaki Hattori, Hideyuki Inouye, et al. Phys. Rev., 1996, B53: 8349.
[6] Ralph Weissleder. Nature Biotechnology, 2001, 19(4): 316.
[7] Wang G, Park H Y, Lipert R J, et al. Analytical Chemistry, 2009, 81(23): 9643.
[8] Cao Y C, Jin, R, Mirkin C A. Science, 2002, 297(5586): 1536.
[9] Rycenga M, Kim M H, Camargo P H C, et al. The Journal of Physical Chemistry A, 2009, 113(16): 3932.
[10] Jong Kuk Lim, Ohyun Kwon, Sang-Woo Joo. J. Phys. Chem., C, 2008, 112: 6816.
[11] Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, et al. Phys. Rev. Lett., 1997, 78: 1667.
[12] Nie S, Emory S R. Science, 1997, 275: 1102.
[13] Kneipp J, Kneipp H, McLaughlin M, et al. Nano Letters, 2006, 6(10): 2225.
[14] Razvigor Ossikovski, Quang Nguyen, Gennaro Picardi. Phys. Rev., 2007, B75: 045412.
[15] Hermet P, Veithen M, Ph Ghosez. Journal of Physics-Condensed Matter, 2007, 19(9): 096002.
[16] Coppari F, Chervin J C, Congeduti A, et al. Physical Review, 2009, B80: 115213.

Raman Scattering Calculations Studies of Malachitegreen Isothiocyanate

GUO Mo-ran, CAI Hong-xing, CHEN Gao, FAN Ya, ZHANG Xi-he*
International Joint Research Center for Nanophotonics and Biophotonics, CUST, Jilin, China, ILPB, and UB, USA

Abstract Malachite green isothiocyanate (MGITC) is a Raman probe molecule that was applied to cells detection, tissue composition detection and cells stain imaging. In the present work, MGITC molecular structure was optimized by density functional theory (DFT) calculation. MGITC molecular Raman spectra and infrared spectra were calculated with Hartree-Fork theory and MP2 theory based on STO-3G level, then two theoretical Raman spectra were carefully compared with experimental spectra, and good agreements were obtained between the theoretical and experimental results. MGITC structure parameters were given also in the paper including bond lengths and bond angles etc. Vibrational modes were assigned to all bands in the range between 550 and 4 200 cm^{-1}. This work will facilitate the application of MGITC Raman probe for biology.

Keywords Raman spectroscopy; Theoretical Raman spectroscopy; MGITC

(Received Aug. 5, 2010; accepted Nov. 20, 2010)

* Corresponding author

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net