



稳定同位素 ^{13}C 标记 C_{60} 的制备及光谱性质

阮龙飞^{①③}, 常雪灵^{①*}, 孙宝云^①, 郭翠彬^①, 董金泉^①, 杨胜韬^{①④}, 高兴发^①, 赵宇亮^{①②*}, 杨敏^③

① 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室, 中国科学院高能物理研究所, 北京 100049;

② 国家纳米科学中心, 北京 100190;

③ 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065;

④ 西南民族大学化学与环境保护工程学院, 成都 610041

* 联系人, E-mail: changxl@ihep.ac.cn; zhaoyuliang@ihep.ac.cn; zhaoyl@nanoctr.cn

2013-09-30 收稿, 2013-11-20 接受, 2014-02-14 网络版发表

国家自然科学基金(11005116)和国家重点基础研究发展计划(2012CB932601, 2013CB932703)资助

摘要 富勒烯纳米材料因其独特的结构和生物活性在生物医学领域广受关注, 然而真正实现它们的商业化应用, 仍需要进一步地研究, 解决关键的生物安全性问题. 本文利用电弧放电法, 以稳定同位素 ^{13}C 直接替位掺入 C_{60} 碳笼上的骨架碳原子, 合成了 $^{13}\text{C}\text{-C}_{60}$, 确定了稳定同位素 ^{13}C 的掺入量, 研究了稳定同位素效应所引起的 C_{60} 分子质谱及振动光谱的变化特征, 证实这种 ^{13}C 直接标记法不破坏富勒烯碳笼的本征结构. 研究发现 ^{13}C 标记的 C_{60} 分子的质谱分子离子峰呈正态分布, 较强的分子离子峰 m/z 随 ^{13}C 标记量的增加而增大; 其分子振动的红外和拉曼光谱虽然都保留了 C_{60} 分子的特征光谱峰, 但又随 ^{13}C 标记量的增加而发生不同程度地迁移和劈裂, 这主要是由于稳定同位素 ^{13}C 的掺入, 致使 C_{60} 分子结构的对称性降低. 这种稳定同位素 ^{13}C 标记富勒烯 $^{13}\text{C}\text{-C}_{60}$, 将为安全、无损、定量的富勒烯纳米材料体内的生物安全性研究奠定重要基础.

关键词

电弧放电
稳定同位素 ^{13}C
稳定同位素标记
富勒烯 $^{13}\text{C}\text{-C}_{60}$
 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 同位素比
分子振动光谱
拉曼光谱

碳纳米材料在生物医药和材料领域的独特的活性^[1-9], 已引起人们的广泛关注. C_{60} 不仅是富勒烯家族中最典型的代表, 也是碳纳米材料研究的起源^[10]. 1985年, Kroto等人^[11]在真空中利用激光溅射石墨发现 C_{60} , 它拥有完美的球形对称性结构, 稳定性强, 本身即是一种纳米颗粒, 具有纳米尺度的中空碳笼, 由 60 个碳原子以 20 个六元环和 12 个五元环连接而成的具有 60 个单键, 30 个双键的足球状 32 面体. 碳笼外能够进行丰富的化学修饰, 可获得具有理想生物功能的衍生物, 笼内内包金属, 获得独特的光、电、磁等效应. 比如富勒烯衍生物 PCBM, 作为一种有效成分应用于有机太阳能电池^[12-14], 钪内包金属富勒烯 $\text{Gd}@\text{C}_{82}(\text{OH})_{40}$ 作为医用造影剂^[15,16], 以及 $\text{Gd}@\text{C}_{82}(\text{OH})_{22}$ 作为一种潜在的高效低毒的抗肿瘤药物^[17-20]等.

然而, 由于富勒烯分子的结构性质以及碳纳米

材料生物效应和安全性研究的复杂性^[21-28], 极大地制约了富勒烯纳米材料在医药领域的真正应用. 虽然人们已经使用放射性同位素 ^{14}C , ^{125}I 等标记 C_{60} 及其衍生物^[29], 进行体内示踪研究, 得到了一些有价值的结果^[30,31], 但这些标记都会引起富勒烯分子的结构或物理化学性质不同程度地改变, 结果不仅不能反映富勒烯分子的本征性质, 而且难以彻底解决带示踪原子的富勒烯侧链在体内断裂以及放射性同位素的蓄积会引起放射毒性这些问题, 在阐明其体内生物安全性方面具有一定的局限性.

本文利用电弧放电法^[32,33]合成了稳定同位素 ^{13}C 直接替代碳笼骨架碳原子 ^{12}C 的富勒烯, 并对 ^{13}C 和 ^{12}C 碳粉不同混合比例对 ^{13}C 标记 C_{60} 的标记量的影响进行了研究, 通过激光飞行时间质谱和同位素比值质谱测试确定了 $^{13}\text{C}\text{-C}_{60}$ 及其标记量, 研究了 $^{13}\text{C}\text{-}$

引用格式: 阮龙飞, 常雪灵, 孙宝云, 等. 稳定同位素 ^{13}C 标记 C_{60} 的制备及光谱性质. 科学通报, 2014, 59: 905-912

Ruan L F, Chang X L, Sun B Y, et al. Preparation and spectra of ^{13}C -enriched fullerene (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2014, 59: 905-912, doi: 10.1360/972013-1101

C₆₀ 的红外和激光拉曼光谱特征. 该方法不仅不会改变富勒烯本身的化学结构和性质, 也不会造成体内示踪原子与富勒烯的脱落或断裂, 而且稳定同位素 ¹³C 无放射性, 对生物体无害. 这种直接标记法使 C₆₀ 的骨架碳原子中部分 ¹²C 由 ¹³C 替代, ¹³C/¹²C 的比值发生变化, 可采用同位素比值-质谱仪进行高精度、超灵敏地定量检测, 客观、忠实地反映富勒烯及其衍生物本征性质的生物学行为, 对富勒烯纳米材料在生物医药领域的应用和开发具有重要的实际意义.

1 实验

首先参照文献[32~37]中制备富勒烯的直流电弧放电法合成稳定同位素 ¹³C 标记的富勒烯. 具体过程如下, 把稳定同位素 ¹³C 粉(99%)和普通碳粉(98.5%)以一定比例混合, 装入空心碳棒(长 12.0 cm, 直径 1.0 cm)为阳极, 光谱纯石墨棒为阴极的电弧放电炉中. 放电前, 将系统预抽真空 5 Pa, 充入高纯惰性气体氦气 200 Torr(1 Torr=1.33×10² Pa, 下同), 设置电流 135 A, 先将阴阳极短路, 对碳棒加热 3 min, 以除去吸附在碳棒中的氧气或其他杂质. 精确控制放电条件: 充入高纯惰性气体氦气, 维持 135 Torr, 两电极间距离约 3~5 mm, 电流 110 A, 有效电压 27 V. 放电完毕后, 冷却、扫灰、收集碳灰, 二硫化碳回流 10 h, 过滤, 收集滤液, 旋转蒸干, 甲苯超声溶解. 将溶液过 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 滤液进行高效液相色谱分离和纯化, 按照色谱峰收集馏分进行质谱测定, 获得纯度大于 98%的 ¹³C-C₆₀, 以稳定同位素质谱测定稳定同位素的标记量, 用紫外可见分光光度计(Hitachi-U-3900, 日立, 日本)、红外光谱和激光拉曼光谱仪进行光谱表征.

实验中所用试剂均为分析纯或色谱纯试剂(北京化工厂, 中国), 稳定同位素 ¹³C 粉(99%)购于美国剑桥稳定同位素公司(Cambridge Isotope Laboratories Inc., 美国), 普通碳粉(98.5%)购于北京中西科仪科技有限责任公司. 高效液相色谱(HPLC, LC908-C60, Japan Analytical Industry Co., 日本)条件: Buckeyprep 色谱柱(20 mm×250 mm, Nacalai Co., 日本), 甲苯为流动相, 流速 15 mL/min, 紫外检测波长为 335 nm. 质谱仪是 Autoflex 激光基质辅助飞行时间质谱仪(Autoflex, Bruker 公司, 德国). 稳定同位素质谱仪(MAT-253, Thermo Electron-Finnigan 公司, 美国). 傅里叶变换红外光谱仪(Tensor27, Bruker 公司, 德

国), 以 KBr 压片法测试. 激光拉曼光谱仪(Renishaw inVia plus, Renishaw 公司, 英国), 激发波长 514 nm, 0.5% 的激光能量, 4 个循环, 暴露时间 50 s.

2 结果与讨论

2.1 激光飞行时间质谱分析

首先, 对色谱分离纯化的样品 C₆₀ 和 ¹³C-C₆₀ 进行了激光飞行时间质谱分析. 为避免基质对信号的干扰, 在样品靶上不加基质, 采用直接点样法, 使用极易挥发的甲苯为溶剂, 不仅可以增大样品的溶解度, 而且由于溶剂的易挥发性, 大大减小了样品在光滑金属表面(样品靶)上的扩散, 保证了靶上样品的浓缩和富集, 从而大大提高信噪比. 测得的结果示于图 1. 图 1 为 C₆₀ 单一峰的飞行时间质谱图, 清楚地表明由 60 个 ¹²C 原子组成的 C₆₀ 的丰度较高的分子离子峰为 $m/z=719.52$, 稳定同位素的 ¹³C 的引入, 使 ¹³C-C₆₀ 的分子质量增加, 稳定同位素 ¹³C 的丰度增大, $m/z=720$ 的分子离子峰的强度大幅降低, 分子离子峰几乎以等差数列($n=1$)依次递增, 即 ¹²C₆₀/720, 721, 722, 723, 724 和 725 对应为 ¹²C₆₀, ¹³C¹²C₅₉, ¹³C₂¹²C₅₈, ¹³C₃¹²C₅₇, ¹³C₄¹²C₅₆ 和 ¹³C₅¹²C₅₅, 丰度最高的分子离子峰准确至 $m/z=725.71$, 并且质谱图中没有其他杂峰, 这也说明我们的样品色谱分离纯化的比较好. 如其质谱图的放大图所示(插图), 稳定同位素 ¹³C 替换了 C₆₀ 碳笼上的骨架碳原子, 改变了富勒烯质谱中分子离子峰的同位素峰的分布, 由原来的陡峭分布变成正态分布, 这与文献[38,39]中以 ¹³C 标记研究富勒烯的形成机制报道一致. ¹³C 比 ¹²C 多 1 个中子, 促使 ¹³C-C₆₀ 质谱中较强的分子离子峰增大, 这里最强分子离子峰迁移的程度取决于富勒烯中 ¹³C 标记量的多寡^[40], 实验中我们也发现, 富勒烯的较强分子离子峰的迁移量随 ¹³C 标记量的减少而减小. 合成原料中减少 ¹³C 的掺入量, 获得的富勒烯的较强分子离子峰的 m/z 可减小到 722.31. 这种直接标记的稳定同位素效应^[33,38,40], 随其引入量的增加而增强, 富勒烯飞行时间质谱同位素分布的变化有力地证明了 ¹³C 在富勒烯碳笼骨架碳原子的替代标记, 并且不会改变富勒烯碳笼的笼状结构.

2.2 稳定同位素质谱分析

在自然界中, 国际上认可的碳的标准物质 Pee

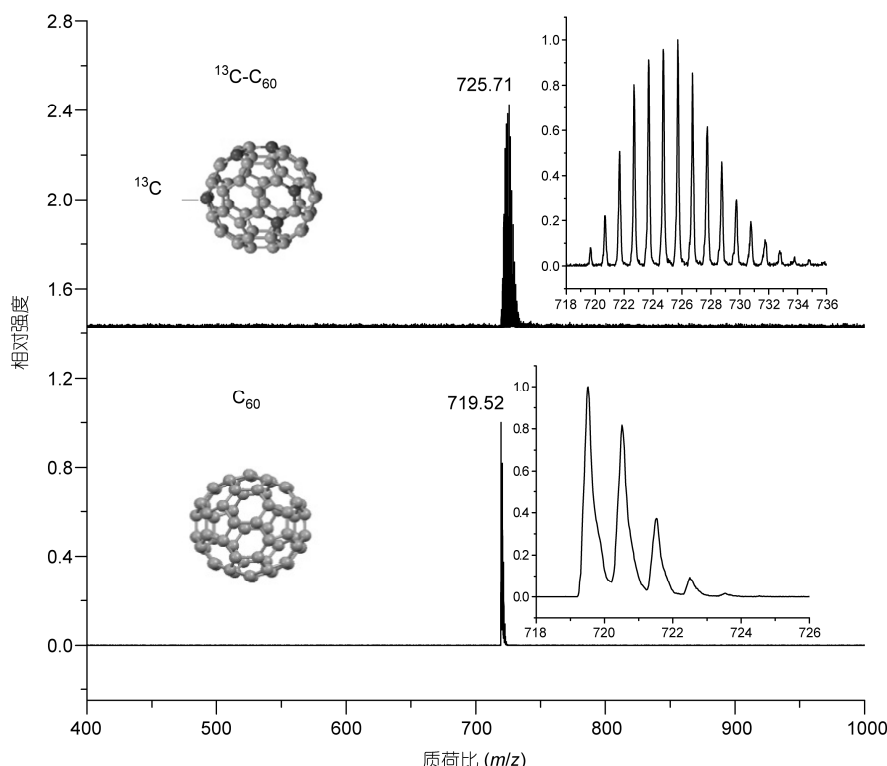


图 1 C_{60} 和 $^{13}C-C_{60}$ 的质谱图

Dee Belemnite 中, ^{12}C 的丰度为 98.89%, 稳定同位素 ^{13}C 的天然丰度仅为 1.11%, 用常规方法难以获得, 所以价格比较昂贵. 由于 ^{13}C 的天然丰度比 ^{12}C 低得多, 用绝对丰度来表示其同位素组成比较困难, 通常以相对量来表示其同位素组成, 即同位素比率 ($^{13}C/^{12}C$ 的丰度比或 δ 值表示). 本文测定的是 $^{13}C/^{12}C$ 的丰度百分比, 表示 ^{13}C 标记富勒烯的情况. 样品经色谱分离纯化, 旋转蒸干后, 在百万分之一分析天平上称取约 0.1~0.2 mg, 在稳定同位素质谱仪上, 样品首先在进样系统转化成气体(CO_2), 在离子源中将气体分子离子化(从每个分子中剥离 1 个电子, 形成带正电的离子), 接着将离子化气体打入飞行管中. 飞行管是弯曲的, 磁铁置于其上方, 磁场导致离子发生偏离, 偏离半径与离子的质量/电荷比率成比例, 重离子比轻离子偏离小(偏离半径大), 即含有重同位素的分子弯曲程度小于含轻同位素的分子, 从而使带电分子依质量不同而分离. 在飞行管的末端有 3 个法拉第收集器, 用以收集经过磁体分离之后, 质量数分别为 44, 45 和 46 的离子束. 不同质量离子束同时收集, 从而可以精确测定不同质量离子之间的比率. 最后应用计算机程序将离子束强度转化为同位素丰度,

获得合成富勒烯中 $^{13}C/^{12}C$ 的丰度百分比. 分别在合成原料碳粉中混合 5% 和 15% 的 ^{13}C 粉, 在相同的合成条件下, 获得 ^{13}C 的丰度高出天然丰度约 4%~8% 的标记富勒烯, 表示为 $^{13}C_nC_{(60-n)}$, 如表 1. 并且根据公式 $n = \frac{^{13}C/^{12}C}{(1 + ^{13}C/^{12}C)} \times 60$ 计算, 获得 1 个 C_{60} 分子中稳定同位素 ^{13}C 替代 ^{12}C 的个数 n , 我们合成的这 2 种稳定同位素 ^{13}C 标记富勒烯的个数分别约为 3 和 5, 标记的碳原子可能随机分布在碳笼上^[41].

2.3 ^{13}C 标记富勒烯 $^{13}C_3C_{57}$ 和 $^{13}C_5C_{55}$ 的红外光谱

对色谱分离纯化的 C_{60} 及 ^{13}C 标记的富勒烯 $^{13}C_3C_{57}$ 和 $^{13}C_5C_{55}$ 甲苯溶液, 旋转蒸发, 真空干燥, 挥去残留溶剂, 采用 KBr 压片法进行红外光谱测定, 如图 2 所示. 实验测得 C_{60} 的 4 个 F_{1u} 模式的红外激活

表 1 不同标记量的 $^{13}C-C_{60}$ 中 $^{13}C/^{12}C$ 的同位素比值

原料中混合 ^{13}C 的量(%)	$\delta^{13}C/^{12}C$	$^{13}C/^{12}C$ 的 丰度百分比(%)	^{13}C 标记的 C_{60}
0	-20.165	1.08	C_{60}
5	4107.671	5.40	$^{13}C_3C_{57}$
15	8488.649	9.59	$^{13}C_5C_{55}$

振动频率与文献[33,42]报道一致。 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 和 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 保留了 C_{60} 的 4 个特征红外振动频率, 同时, 它们的红外振动发生了位移. 随 ^{13}C 标记量的增加, 标记富勒烯的红外吸收光谱向低波数迁移的越大(表 2). 与 C_{60} 分子的红外吸收光谱相比, 标记 3 个 ^{13}C 原子时, $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 的红外吸收谱带向低波数约迁移 2 cm^{-1} , 标记 5 个 ^{13}C 原子时, $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 的红外吸收谱带向低波数约迁移 4 cm^{-1} . 对于 C_{60} 分子的红外光谱, 由于 ^{13}C 的质量效应的影响, 标记量越多, 可能引起分子振动所需要的能量越大, 同位素效应也越显著, 使其红外吸收的特征谱线呈现向低波数迁移的特点^[33].

2.4 ^{13}C 标记富勒烯 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 和 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 的拉曼光谱

拉曼光谱和红外光谱一样同属于分子振动光谱, 可以反映分子的特征结构. 拉曼光谱以无损伤的光子探针方法, 通过分子振动模式变化在拉曼光谱中的体现, 可以非常灵敏地反映分子结构特征以及分子结构微小变化所产生的微小振动差异. 拉曼光谱可视为物质结构的分子指纹性信息, 即每一种物质都有自己特征拉曼谱图, 如石墨的特征峰为 1580 cm^{-1} , 可通过对比特征谱来判断或预测材料的成分和结构.

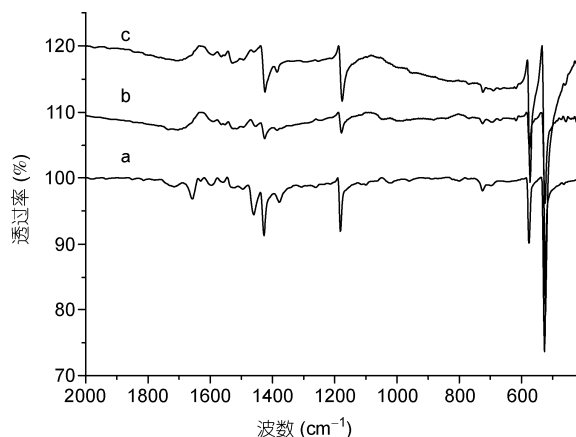


图 2 C_{60} 和 $^{13}\text{C}\text{-C}_{60}$ 的红外光谱图
(a) C_{60} ; (b) $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$; (c) $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$

表 2 C_{60} 和 $^{13}\text{C}\text{-C}_{60}$ 的特征红外光谱峰的迁移

样品	波数(cm^{-1})			
C_{60}	527	577	1182	1427
$^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$	525	575	1178	1425
$^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$	523	573	1177	1423

碳纳米管和石墨的拉曼光谱很接近, 可以判断它们具有类似的结构. 拉曼光谱作为一种认证物质和分析成分的有力工具, 被广泛用于物理学、化学、生物学以及材料科学等领域. 由于拉曼散射对碳材料结构中的偏移对称性十分敏感, 也是一种探测碳纳米材料微观结构信息十分理想的科研手段.

对于独立的 C_{60} 分子, 由于具有 I_h 对称, 它共有 46 个振动模式^[43~47]:

$$\Gamma = 2A_g(R) + 3F_{1g} + 4F_{2g} + 6G_g + 8H_g(R) + A_u + 4F_{1u}(IR) + 5F_{2u} + 6G_u + 7H_u,$$

其中 2 个非简并的 A_g 模式和 8 个五重简并的 H_g 模式是拉曼活性的, 4 个 F_{1u} 模式是红外活性的.

本文分别对 C_{60} 及其稳定同位素 ^{13}C 标记的富勒烯 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 和 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 进行了拉曼光谱研究, 采用激发光的激发波长为 514 nm , 室温条件下, 把样品的甲苯饱和溶液滴到铁片上, 真空挥干, 过夜, 进行拉曼测试. 首先测得了 C_{60} 分子的 10 个拉曼活性的振动模式的拉曼谱线, 其中 $A_g(2)$ 模式的拉曼峰最强, 它是 C_{60} 的特征峰, 与文献[42,48~50]报道相符. 同时, 本文也研究了 ^{13}C 不同标记量对富勒烯特征拉曼峰的影响, 如图 3 所示, 比较 C_{60} 和 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$, $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 的拉曼光谱可以发现, $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$, $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 拉曼光谱中都包含了 C_{60} 的特征拉曼振动频率(表 3), 这说明 C_{60} 的笼形结构不会发生改变. 但是 ^{13}C 的引入, 标记富勒烯的拉曼谱中特征拉曼振动的峰位发生了移动, 并且富勒烯碳骨架碳原子被 ^{13}C 替换越多, 其特征拉曼峰向低波数迁移越大. 当 C_{60} 分子被标记 3 个 ^{13}C 时, 与 C_{60} 分子的拉曼振动光谱相比, $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 的 A_g 模式的振动频率与 C_{60} 分子的 494 和 1468 cm^{-1} 几乎相同(图 4), $H_g(1)$, $H_g(2)$, $H_g(3)$, $H_g(4)$, $H_g(5)$, $H_g(6)$ 和 $H_g(7)$ 模式的振动频率几乎不变或微弱变化, H_g 模式的部分振动出现轻微的肩峰(图 5), $H_g(8)$ 模式的振动变化较明显, 由 1574 cm^{-1} 迁移至 1563 cm^{-1} . 当 C_{60} 分子被 5 个 ^{13}C 替代时, $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 的特征 A_g 模式的振动频率发生了变化, $A_g(1)$ 模式的振动频率由 C_{60} 分子的 494 cm^{-1} 移到 490 cm^{-1} , 并在此附近出现肩峰, $A_g(2)$ 模式的振动频率由 1468 cm^{-1} 移到 1461 cm^{-1} (图 4), H_g 模式的振动劈裂或迁移, $H_g(1)$ 模式的振动由 269 cm^{-1} 分裂成 250 cm^{-1} , 267 cm^{-1} 和 295 cm^{-1} 3 个峰, $H_g(2)$ 和 $H_g(6)$ 模式的振动出现肩峰和新的振动峰(图 4 和 5), $H_g(8)$ 模式的振动频率由 1574 cm^{-1} 迁移到 1566 cm^{-1} . 此外, 我们也观测到 ^{13}C 的替位, 使 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 和 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 在 $H_g(5)$

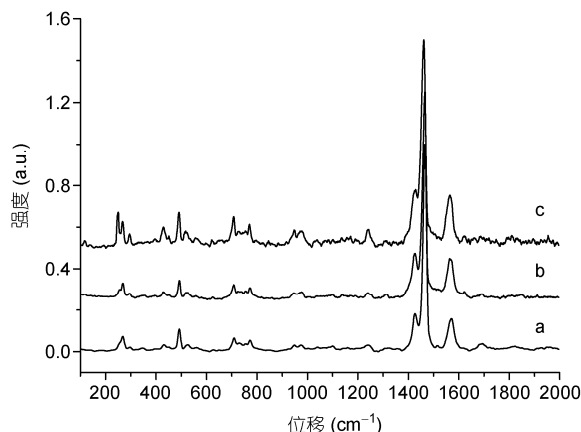


图3 C_{60} 和 $^{13}C-C_{60}$ 的拉曼光谱图
(a) C_{60} ; (b) $^{13}C_3C_{57}$; (c) $^{13}C_5C_{55}$

模式的振动峰附近 973 和 949 cm^{-1} 处均出现了新的轻微的振动峰。

^{13}C 的替位掺入, 改变了 C_{60} 分子的质量数, 使 C_{60} 分子的对称性降低, 其拉曼振动频率随 ^{13}C 的标记量而发生不同程度的变化, 但不会改变其笼形结构. ^{13}C 较少的标记量, 不会引起 A_g 模特征振动频率的变化, 多数五重简并的 H_g 模式的振动频率变化也较小, 但 $H_g(8)$ 模式的振动峰发生较大位移, $H_g(1)$ 模式的振动出现微弱的肩峰信号; 随着 ^{13}C 掺入量的增加, A_g 模式特征振动频率变化越明显, 并且 A_g 模式切向位移的五边形收缩模式 $A_g(2)$ 的频率变化较大, $H_g(1)$ 模式的振动峰发生分裂, $H_g(8)$ 模式的振动峰位移减小. 从拉曼光谱结果分析, 在 ^{13}C 掺入量较少时, 主要影响五重简并的 H_g 模式的振动, 随着其掺入量

表3 C_{60} 和 $^{13}C-C_{60}$ 的特征拉曼光谱峰的迁移及其振动模式

振动模式	波数(cm^{-1})		
	C_{60}	$^{13}C_3C_{57}$	$^{13}C_5C_{55}$
$H_g(1)$	269	269	248
			267
			295
$H_g(2)$	429	431	431
$A_g(1)$	494	494	492
$H_g(3)$	708	708	708
$H_g(4)$	774	772	771
		949	949
		973	973
$H_g(5)$	1099	1099	1099
$H_g(6)$	1243	1243	1243
$H_g(7)$	1426	1427	1427
$A_g(2)$	1468	1467	1461
$H_g(8)$	1574	1563	1566

的增加, 不仅使五重简并的 H_g 模式的一些振动发生分裂, 还将导致非简并的 A_g 模式的振动发生较大的变化. 这可能由于同位素替换效应, 引起 C_{60} 分子的对称性破缺, 同位素替换越多, C_{60} 分子的对称性降低的程度越大, 简并度下降, 从而导致多数简并振动模式的分裂, 非简并的 A_g 模式的振动变化显著, 甚至出现新的由拉曼非活性变为拉曼活性的振动峰。

从实验结果分析, 对于这种直接标记富勒烯的

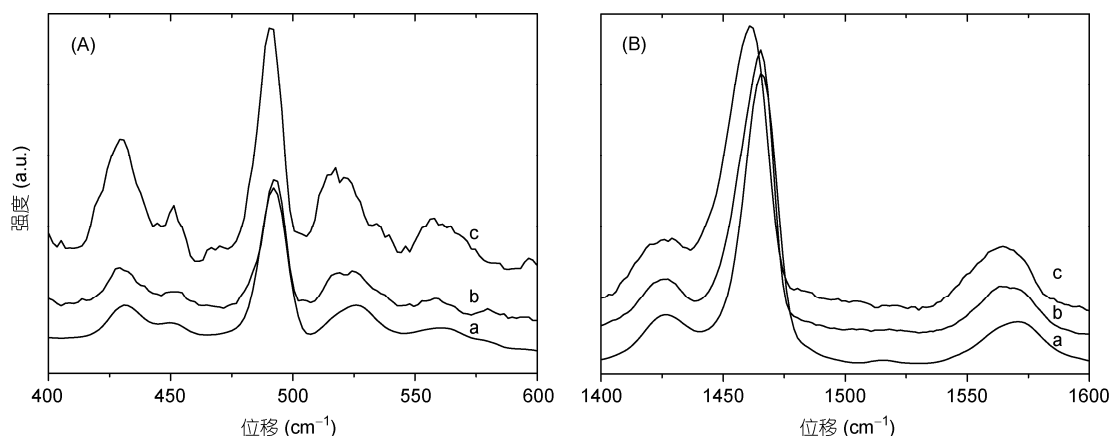


图4 稳定同位素 ^{13}C 对 C_{60} 振动模式(A) $A_g(1)$ 和(B) $A_g(2)$ 的特征拉曼峰影响
(a) C_{60} ; (b) $^{13}C_3C_{57}$; (c) $^{13}C_5C_{55}$

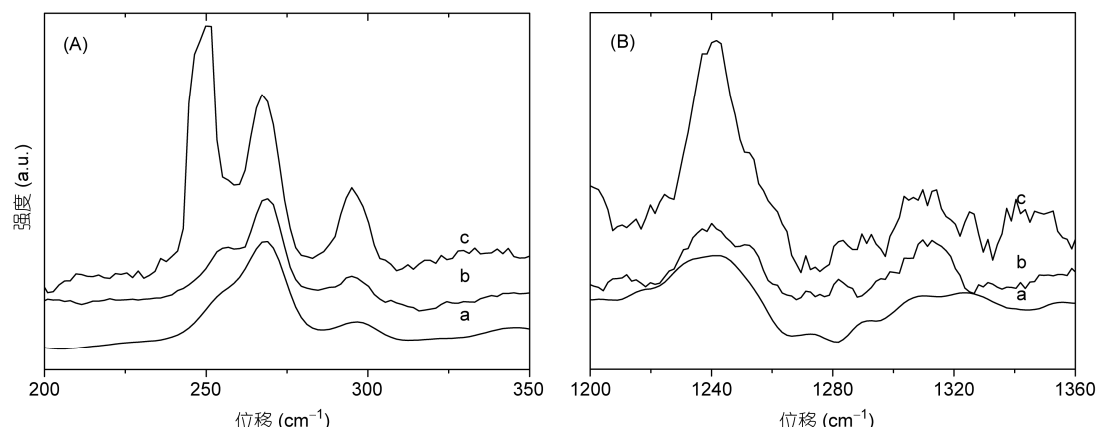


图 5 稳定同位素 ^{13}C 对 C_{60} 振动模式(A) $\text{H}_g(1)$ 和(B) $\text{H}_g(6)$ 的特征拉曼峰的影响
(a) C_{60} ; (b) $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$; (c) $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$

稳定同位素效应, ^{13}C 的替代标记不改变富勒烯的本征的笼状结构. 虽然其分子振动光谱表现为随 ^{13}C 标记量的增加而有所增强, 如 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 比 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 的红外光谱和拉曼光谱的特征谱线迁移显著, 并且 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 的模式振动发生分裂, 甚至出现新的由拉曼非活性变为拉曼活性的振动峰, 但是, 它们均保留 C_{60} 分子振动的 4 个红外和 10 个拉曼激活的特征谱线. 此外, 本文还对其紫外-可见吸收光谱也进行了研究, 发现这种标记的 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 和 $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 与 C_{60} 分子紫外-可见吸收光谱一致^[34,39], 吸收波长为 285 和 335 nm, 其中最大吸收波长为 335 nm, ^{13}C 在富勒烯碳笼上的替位标记, 也不会引起富勒烯分子本身电子跃迁能级的变化. 文献[51~53]曾报道, 富勒烯碳笼上引入官能团也会使 C_{60} 分子的振动光谱发生类似的变化, 我们分析了可能的原因, 无论是碳笼上的替位还是外来官能团, 都会破坏 C_{60} 分子的完美对称性, 从而引起分子振动频率和振动模式的变化. 稳定同位素 ^{13}C 在 C_{60} 分子上的替位, 是随机分布的^[41], 因此, 稳定同位素 ^{13}C 替位标记量越多, C_{60} 分子的对称性可能越低, 将引起分子振动规律性的变化, 然而 ^{13}C 完全替位的富勒烯 $^{13}\text{C}_{60}$, 也可能完全不同, 这些将有待于进一步的实验研究.

3 结论

通过电弧放电法获得了稳定同位素 ^{13}C 替位富勒烯碳笼骨架碳原子的标记富勒烯, 这种富勒烯的稳定同位素的直接标记法, 仍然保留富勒烯本征的碳笼结构. 稳定同位素随机分布在碳笼上, 其同位素效应, 随其标记量的增加而增强, 仅使富勒烯组成碳原子中的同位素分布发生变化. $^{13}\text{C}_5\text{C}_{55}$ 和 $^{13}\text{C}_3\text{C}_{57}$ 飞行时间质谱的同位素分布呈正态分布, C_{60} 中分子离子峰最强峰($m/z=720$)成为 $^{13}\text{C}-\text{C}_{60}$ 质谱中的较弱峰, 并且逐级增大到最强分子离子峰. 同时, 它们也保留了 C_{60} 的分子振动的 4 个红外和 10 个拉曼光谱特征, 而同位素的质量效应, 使其特征谱线发生了不同程度的迁移和变化. 此外, 由于稳定同位素 ^{13}C 难以富集、价格昂贵, 本文通过这种电弧放电的直接标记方法同时也能获得一系列 ^{13}C 标记的高碳富勒烯, 如 C_{70} , C_{76} , C_{78} , C_{80} 和 C_{84} 等, 为开展碳笼大小不同的富勒烯的生物效应研究提供了可能的平台. 采用同位素比值-质谱仪定量测定 ^{13}C 的标记量, 可以原位、实时、安全无损地追踪富勒烯纳米材料的归趋, 相信这将为富勒烯纳米材料在生物医药领域的应用打开新的窗口.

参考文献

- 1 Da Ros T, Prato M. Medicinal chemistry with fullerenes and fullerene derivatives. *Chem Commun*, 1999, (8): 663–669
- 2 Da Ros T. Twenty Years of Promises: Fullerene in Medicinal Chemistry. Netherlands: Springer Netherlands, 2008. 1–21
- 3 Rajagopalan P, Wudl F, Schinazi R F, et al. Pharmacokinetics of a water-soluble fullerene in rats. *Antimicrob Agents Ch*, 1996, 40: 2262–2265

- 4 Ali S S, Hardt J I, Quick K L, et al. A biologically effective fullerene (C_{60}) derivative with superoxide dismutase mimetic properties. *Free Radical Bio Med*, 2004, 37: 1191–1202
- 5 Dugan L L, Turetsky D M, Du C, et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 9434–9439
- 6 Cai X Q, Jia H Q, Liu Z B, et al. Polyhydroxylated fullerene derivative $C_{60}(OH)_{24}$ prevents mitochondrial dysfunction and oxidative damage in an MPP⁺-induced cellular model of Parkinson's disease. *J Neurosci Res*, 2008, 86: 3622–3634
- 7 Isobe H, Nakanishi W, Tomita N, et al. Nonviral gene delivery by tetraamino fullerene. *Molecular Pharmaceut*, 2005, 3: 124–134
- 8 Ying Q C, Zhang J, Liang D H, et al. Fractal behavior of functionalized fullerene aggregates. I. Aggregation of two-handed tetraaminofullerene with DNA. *Langmuir*, 2005, 21: 9824–9831
- 9 Zakharian T Y, Seryshev A, Sitharaman B, et al. A fullerene-paclitaxel chemotherapeutic: Synthesis, characterization, and study of biological activity in tissue culture. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12508–12509
- 10 Anonymous. Football crazy, fullerene mad. *Nat Chem*, 2010, 2: 511
- 11 Kroto H W, Heath J R, O'Brien S C, et al. C_{60} : Buckminsterfullerene. *Nature*, 1985, 318: 162–163
- 12 Thompson B C, Fréchet J M. Polymer-fullerene composite solar cells. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 47: 58–77
- 13 孟祥悦, 蒋礼, 舒春英, 等. 聚合物太阳能电池中富勒烯受体材料研究进展. *科学通报*, 2012, 57: 3437–3449
- 14 刘欣, 姬濯宇, 刘明, 等. 有机非挥发性存储器的研究进展. *科学通报*, 2011, 56: 2298–2310
- 15 Mikawa M, Kato H, Okumura M, et al. Paramagnetic water-soluble metallofullerenes having the highest relaxivity for MRI contrast agents. *Bioconjug Chem*, 2001, 12: 510–514
- 16 卢兴, 徐建勋, 施祖进, 等. 新型核磁成像对比剂——两种 $Gd@C_{82}$ 水溶性衍生物的弛豫性能研究. *高等学校化学学报*, 2004, 25: 697–700
- 17 Chen C Y, Xing G M, Wang J X, et al. Multi hydroxylated $[Gd@C_{82}(OH)_{22}]_n$ nanoparticles: Antineoplastic activity of high efficiency and low toxicity. *Nano Lett*, 2005, 5: 2050–2057
- 18 Kang S G, Zhou G Q, Yang P, et al. Molecular mechanism of pancreatic tumor metastasis inhibition by $Gd@C_{82}(OH)_{22}$ and its implication for de novo design of nanomedicine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 15431–15436
- 19 Meng H, Xing G M, Blanco E, et al. Gadolinium metallofullerenol nanoparticles inhibit cancer metastasis through matrix metalloproteinase inhibition: Imprisoning instead of poisoning cancer cells. *Nanomedicine*, 2012, 8: 136–146
- 20 Liang X J, Meng H, Wang Y Z, et al. Metallofullerene nanoparticles circumvent tumor resistance to cisplatin by reactivating endocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 7449–7454
- 21 徐莺莺, 林晓影, 陈春英. 影响纳米材料毒性的关键因素. *科学通报*, 2013, 58: 2466–2478
- 22 常雪灵, 祖艳, 赵宇亮. 纳米毒理学与安全性中的纳米尺寸与纳米结构效应. *科学通报*, 2011, 56: 108–118
- 23 王越, 王鹏, 陈春英, 等. 碳纳米管呼吸系统毒性作用机制及其影响因素的研究进展. *科学通报*, 2013, 58: 2007–2020
- 24 刘颖, 陈春英. 纳米材料的安全性研究及其评价. *科学通报*, 2011, 56: 119–125
- 25 韩伟, 于艳军, 李宁涛, 等. 纳米复合材料在食品包装中的应用及其安全评价. *科学通报*, 2011, 56: 198–209
- 26 丁艳萍, 季天骄, 宋晓, 等. 纳米技术识别和调控肿瘤微环境用于肿瘤诊疗的研究进展. *科学通报*, 2013, 58: 2436–2448
- 27 常雪灵, 祖艳, 赵宇亮. 纳米毒理学研究新进展. *中国毒理学报*, 2011, 1: 1–7
- 28 常雪灵, 赵宇亮, 周平坤. 纳米毒理学——纳米材料与生物体系的相互作用. *中国毒理学通讯*, 2008, 12: 3–9
- 29 Chen C Y, Li Y F, Qu Y, et al. Advanced nuclear analytical and related techniques for the growing challenges in nanotoxicology. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 8266–8303
- 30 Chen Z Y, Ma L J, Liu Y, et al. Applications of functionalized fullerenes in tumor theranostics. *Theranostics*, 2012, 2: 238–250
- 31 Bakry R, Vallant R M, Najam-ul-Haq M, et al. Medicinal applications of fullerenes. *Int J Nanomed*, 2007, 2: 639–649
- 32 Haufler R E, Conceicao J, Chibante L P F, et al. Efficient production of C_{60} (buckminsterfullerene), $C_{60}H_{36}$, and the solvated buckide ion. *J Phys Chem*, 1990, 94: 8634–8636
- 33 Krätschmer W, Fostiropoulos K, Huffman D R. The infrared and ultraviolet absorption spectra of laboratory-produced carbon dust: Evidence for the presence of the C_{60} molecule. *Chem Phys Lett*, 1990, 170: 167–170
- 34 Krätschmer W, Lamb L D, Fostiropoulos K, et al. Solid C_{60} : A new form of carbon. *Nature*, 1990, 347: 354–358
- 35 Gu Z N, Qian J X, Zhou X H, et al. Buckminsterfullerene C_{60} : Synthesis, spectroscopic characterization and structure analysis. *J Phys Chem*, 1991, 95: 9615–9618
- 36 周颖, 邱介山, 杨兆国, 等. 富勒烯 C_{60} 的制备研究 I 最佳制备条件的确定. *新型炭材料*, 1999, 14: 17–21
- 37 王金刚, 彭汝芳, 俞海军, 等. 电弧法合成富勒烯研究. *西南科技大学学报*, 2008, 23: 1–4
- 38 Ebbesen T W, Tabuchi J, Tanigaki K. The mechanistics of fullerene formation. *Chem Phys Lett*, 1992, 191: 336–338
- 39 Ajie H, Alvarez M M, Anz S J, et al. Characterization of the soluble all-carbon molecules C_{60} and C_{70} . *J Phys Chem*, 1990, 94: 8630–8633
- 40 Meijer G, Bethune D S. Laser deposition of carbon clusters on surfaces: A new approach to the study of Fullerenes. *J Phys Chem*, 1990, 93: 7800–7802

- 41 Hawkins J M, Meyer A, Loren S, et al. Statistical incorporation of $^{13}\text{C}_2$ units into C_{60} . *J Am Chem Soc*, 1991, 113: 9394–9395
- 42 Bethune D S, Meijer G, Tang W C, et al. Vibrational raman and infrared spectra of chromatographically separated C_{60} and C_{70} fullerene clusters. *Chem Phys Lett*, 1991, 179: 181–186
- 43 Adams G B, Page J B, Sankey O F, et al. First-principles quantum- molecular-dynamics study of the vibrations of icosahedral C_{60} . *Phys Rev B*, 1991, 44: 4052–4055
- 44 Adhikari S, Chowdhury R. Vibration spectra of fullerene family. *Phys Lett A*, 2011, 375: 2166–2170
- 45 Rols S, Bousige C, Cambedouzou J, et al. Unravelling low lying phonons and vibrations of carbon nanostructures: The contribution of inelastic and quasi-elastic neutron scattering. *Eur Phys J Spec Top*, 2012, 213: 77–102
- 46 曾攀, 杨学贵, 杜婧. C_{60} 分子 Raman 活性振动模态的计算分析. *振动工程学报*, 2007, 20: 185–188
- 47 李书锋. C_{60} 振动模式的理论及实验分析. *咸阳师范学院学报*, 2008, 23: 28–30
- 48 程光煦, 臧文成, 曾浩, 等. C_{60} 与 Calix[n]arene 互作用(振动性质)的拉曼研究. *光散射学报*, 1997, 9: 205–207
- 49 杨小成, 杜勇, 方炎. C_{60} , C_{70} 的分子对称性与拉曼光谱. *光散射学报*, 2003, 15: 15–21
- 50 Kuzmany H, Matus M, Burger B, et al. Raman scattering in C_{60} fullerenes and fullerides. *Adv Mater*, 2004, 6: 731–745
- 51 刘启鑫, 张鲁殷, 欧阳雨, 等. 富勒烯衍生物的拉曼光谱研究. *山东科技大学学报*, 2009, 27: 46–50
- 52 谢二庆, 徐灿, 巩金龙, 等. 氮掺杂富勒烯的红外和紫外可见光谱. *光谱学与光谱分析*, 1997, 17: 58–61
- 53 李宏年, 李海洋, 吴太权, 等. $\text{C}_{60}\cdot 2\text{CHBr}_3$ 的制备和振动谱. *科学通报*, 2003, 48: 331–334

Preparation and spectra of ^{13}C -enriched fullerene

RUAN LongFei^{1,3}, CHANG XueLing¹, SUN BaoYun¹, GUO CuiBin¹, DONG JinQuan¹,
YANG ShengTao^{1,4}, GAO XingFa¹, ZHAO YuLiang^{1,2} & YANG Min³

¹ CAS Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety, Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

² National Center for Nanosciences and Technology of China, Beijing 100190, China;

³ Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

⁴ College of Chemistry and Environment Protection Engineering, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

In the last three decades, due to the unique structure and biological activities of fullerene materials, many reports were published on their synthesis and application in biomedical and environmental sciences, however, there is very few examples that have leapt out of the laboratory and into the commercial market. Obviously, further study is required to solve their crucial biological safety issues. In this article, the ^{13}C - C_{60} sample was synthesized by arc discharge method with the stable isotope ^{13}C direct substituting the skeleton carbon atoms on the carbon cage. The numbers of the incorporated ^{13}C -atoms have been identified by isotope ratio mass spectroscopy. The isotope effect of the skeleton ^{13}C -enriched C_{60} made its mass spectrum and vibrational Infrared/Raman spectra changes. Its mass spectra peaks at range from $m/z=719\sim 734$ showed the normal distribution and the strongest peak position shifted up with the increase number of ^{13}C . Infrared and Raman spectra of ^{13}C - C_{60} retained the characteristic spectrum of C_{60} , however, due to the stable isotope ^{13}C -incorporated reducing C_{60} molecular symmetry, the characteristic peaks occurred the migration and splitting with increasing the number of ^{13}C . Simultaneously, the ^{13}C direct labeling method does not destroy the intrinsic structure of fullerene. Undoubtedly, ^{13}C - C_{60} will open the door for quantitatively, safely and non-destructively evaluating on the biological safety of fullerene nanomaterials *in vivo*.

arc discharge, stable isotope ^{13}C , the skeleton ^{13}C -enriched fullerene, ^{13}C - C_{60} , $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios, molecular vibrational spectra, Raman spectra

doi: 10.1360/972013-1101