

* 研究简讯 *

2, 5-二苯基 1, 3, 4-二噁唑和 2, 5-二苯基 1, 3-噁唑与 β -环糊精作用机理的研究*

张春芬 沈兴海** 高宏成

北京大学化学与分子工程学院应用化学研究所, 北京 100871

摘要 用核磁共振和稳态荧光等方法研究了 2, 5-二苯基 1, 3, 4-二噁唑(PPD)和 2, 5-二苯基 1, 3-噁唑(PPO)分子与 β -环糊精(β -CD)的相互作用, 测定了包合物的组成和结合常数. 发现疏水作用是形成 PPD(或 PPO)- β -CD 包合物的主要作用力. 直链脂肪醇(正丙醇~正戊醇)的加入使得 PPD(或 PPO)分子从 β -CD 内腔排斥到水相中. 实验结果表明: 噁唑类分子能否与环糊精形成纳米管聚合物, 立体选择性是关键因素.

关键词 核磁共振 稳态荧光 荧光各向异性 β -环糊精

环糊精是环状低聚糖类化合物, 它可以选择性包合许多无机或有机的化合物^[1,2]. 近年来, 环糊精与某类分子形成的“分子项链型”聚集物, 引起了人们的关注^[3~5]. Li 等研究发现^[3], β 和 γ -CD 与反式-二苯基己三烯(DPH)作用能够生成纳米管状聚合物. Agbaria 等^[4,5]实验证明, 几个苯基取代的噁唑类分子, 如 PPD, PPO, PBD 和 BBOD 可和 γ -CD 形成 2:1 型包合物, 当包合物浓度增加到一定值时, 可聚集成链. 该聚集物在升温时降解, 在冷却后生成, 类似于温控液晶. 他们还推断 PPO 等分子不与 β -CD 生成此类聚集物. 到目前为止, 文献报道的可与环糊精形成纳米管聚合物的小分子仅有 DPH, PPO, PPD, PBD 和 BBOD 5 个. 可见形成条件之苛刻. 故理论研究其形成规律, 以寻求更多这类模板小分子, 具有重要意义^[6,7].

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

PPO 和 PPD 是 Aldrich 公司产品, 使用前用硅胶色谱柱纯化. β -CD 和 KI(北京双环试剂厂)用三

次去离子水重结晶 3 次. 重水(99.9%, 美国 Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)由北京汉威士公司分装. 所有其他试剂均为分析纯.

采用 ARX-400MHZ 核磁共振波谱仪, 每一谱图最少采样 800 次. 化学位移值以所含的甲醇为内标($\delta=3.4000 \times 10^{-6}$ 质量分数)^[8]. 吸收光谱、荧光光谱分别于日本 Shimadzu UV-3100 紫外分光光度计和 Hitachi F-4500 荧光光度计上测得. 各向异性值于 Shimadzu RF-5301 荧光分光光度仪上测量. PPD 和 PPO 的激发波长分别为 280 和 313nm.

1.2 实验方法

溶解适量的 PPO 或 PPD 于甲醇中, 制得其标准溶液. 加入适量(体积比 $\varphi < 1$)的标准溶液和一定体积的 β -CD 溶液于 5 mL 容量瓶中, 最后加水定容. 所有实验均在室温下进行.

2 结果和讨论

2.1 谱图特征

2.1.1 吸收光谱图 图1为 PPD 的吸收光谱随 β -CD 浓度的变化. 加入 β -CD 后, PPD 吸收强度略有

2001-10-15 收稿, 2001-12-04 收修改稿

* 国家自然科学基金(批准号: 29901001)资助项目

** 联系人, E-mail: xshen@pku.edu.cn

下降,且在 294 nm 处有等吸光度点,表明 PPD 可能与 β -CD 生成了某种包合物.

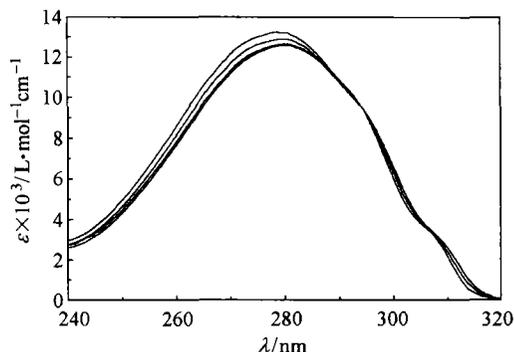


图1 PPD(4.0×10^{-5} mol/L)在不同浓度 β -CD 溶液中的紫外吸收光谱

从上至下, $[\beta\text{-CD}] = 0, 8 \times 10^{-4}, 2 \times 10^{-3}, 1 \times 10^{-2}$ mol/L

2.1.2 荧光光谱图 图2(a), (b)分别为 PPD 和 PPO 在不同浓度 β -CD 溶液中的荧光光谱图. 由图可见, PPD 在 333, 346 nm 处有双峰, 而 PPO 在 375 nm 处出现一个单峰. 随着 β -CD 的加入, PPD, PPO 的荧光强度下降. 这主要是由于杂氮原子的引入, 使分子原有的 π 键体系稳定性下降所致^[9].

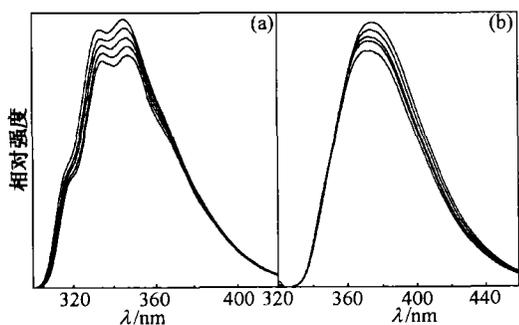


图2 β -CD 浓度对 PPD 和 PPO 荧光光谱图的影响

(a) PPD(2.4×10^{-6} mol/L); (b) PPO(4.0×10^{-3} mol/L);

从上至下, $[\beta\text{-CD}] = 0, 4 \times 10^{-4}, 1 \times 10^{-3}, 4 \times 10^{-3}, 1 \times 10^{-2}$ mol/L

2.1.3 $^1\text{H-NMR}$ 谱 图3是 PPD 分子在不同浓度 β -CD 溶液中的核磁共振谱图. 由图可见, PPD 分子中包含 3 种不同环境的质子(H_a , H_b , H_c).

由图3, 随着 β -CD 浓度的增加, H_b 峰向高场迁移, 说明此时 H_b 质子受到的屏蔽作用增加, 即质子周围电子云密度增加. H_a , H_c 质子峰向低场迁移, 且 H_c 的位移速度大于 H_a . 由上述现象可推知咪唑环上的 $\text{C}=\text{N}$ 键的吸电子特性减弱, 导致邻位上的 C_b 原子电荷密度增加, 而对位和间位 C_a 和 C_c 原子电荷密度减小. $\text{C}=\text{N}$ 键吸电子性的减弱是由于咪

唑环由水相进入到 β -CD 的内腔中, 破坏了水中咪唑 N 原子与 H_2O 分子形成的氢键. 虽然在 β -CD 内腔中, 咪唑 N 原子与 β -CD 内腔中的一 OH 基团也可能有氢键作用, 但此作用明显小于它与 H_2O 的氢键力.

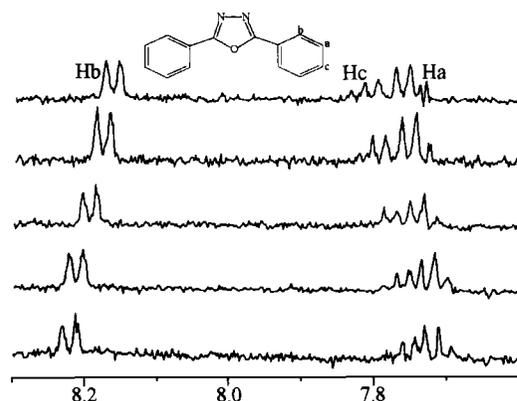


图3 β -CD 浓度对 PPD(4.0×10^{-5} mol/L)的 $^1\text{H-NMR}$ 的影响

从上至下, $[\beta\text{-CD}] = 0, 2 \times 10^{-4}, 8 \times 10^{-4}, 2 \times 10^{-3}, 4 \times 10^{-3}$ mol/L

2.2 包合物的化学计量比和结合常数

2.2.1 $^1\text{H-NMR}$ 滴定法 根据 PPD 分子的大小及 β -CD 内腔的尺寸, 可考虑下列的逐级平衡式^[1]:



此处 PC 和 PC_2 分别代表 1:1 和 1:2 二元包合物, K_1 和 K_2 分别为形成 1:1 和 1:2 包合物的结合常数. 则实验化学位移 Δ 可用(3)式表示

$$\Delta = \frac{\Delta_{11}K_1[\text{CD}] + \Delta_{12}K_1K_2[\text{CD}]^2}{1 + K_1[\text{CD}] + K_1K_2[\text{CD}]^2}, \quad (3)$$

其中 Δ_{11} , Δ_{12} 分别为完全生成 1:1 和 1:2 包合物时与无 β -CD 时化学位移的差值. 实验中, 由于 $[\text{CD}]_0 \gg [\text{PPD}]_0$, 所以可以用环糊精的初始浓度 $[\text{CD}]_0$ 来代替它的平衡浓度 $[\text{CD}]$.

根据(3)式, 不能得到合理的拟合结果. 因此, 可考虑下列两种特殊的情况:

情况 1. 在此体系中, 只含 1:1 的二元包合物, 即 $K_2 = 0$, 则(3)式简化为

$$\Delta = \frac{\Delta_{11}K_1[\text{CD}]}{1 + K_1[\text{CD}]}, \quad (4)$$

情况2. 只含有1:2二元包合物, 则(3)式简化为

$$\Delta = \frac{\Delta_{12}K_1K_2[CD]^2}{1 + K_1K_2[CD]^2} \quad (5)$$

以 PPD 的 H_a 和 H_b 质子的化学位移值分别按(4)和(5)式对 $[CD]$ 进行非线性拟合. 结果发现, 只有以(4)式进行拟合时, 可得到合理的结果(见图4). 说明只有1:1的二元包合物生成. 分别以 H_a , H_b 进行拟合时, 结合常数 K_1 分别为 672 ± 30 ($r^2 = 0.998$) 和 $(609 \pm 25) \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$ ($r^2 = 0.999$).

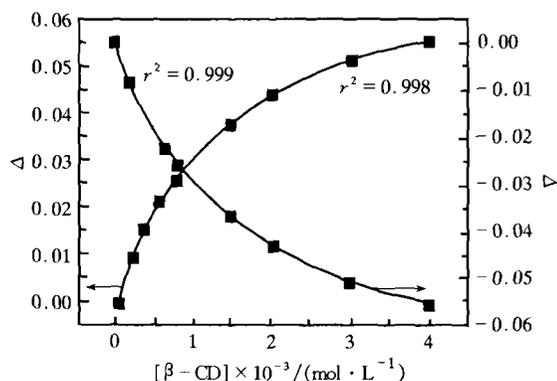


图4 以 PPD 质子的化学位移(■ H_a , ● H_b)根据(5)式对 $[\beta\text{-CD}]$ 拟合结果

根据 Benesi-Hildebrand 双倒数曲线方法^[11], 只有以 $1/\Delta$ 对 $1/[CD]_0$ 作图时为一条直线, 这进一步证明在 PPD- β -CD 二元体系中只存在 1:1 二元包合物.

2.2.2 荧光各向异性法 由图2, PPD 和 PPO 分子在 β -CD 加入前后, 荧光强度的变化并不明显, 用普通的荧光滴定法求结合常数将会带来较大的误差. 通常, 荧光各向异性值 R 与荧光分子有效转动扩散速率有关. 因此, 荧光各向异性法经常用来确定蛋白质-配体间的结合常数^[10], 而在测定环糊精包合物结合常数方面应用则不多^[11]. 本文研究表明, PPD 或 PPO 的荧光各向异性随着环糊精浓度的不同有很大的变化, 所以可以用荧光各向异性法求结合常数.

假设只有 1:1 的包合物生成, 荧光各向异性 R 与 $[CD]_0$ 的关系可表述^[11]

$$[CD]_0 = \frac{R - R_F}{K_1(R_B - R)} \quad (6)$$

根据(6)式进行曲线拟合, 可得到合理的拟合

结果. 在 PPD- β -CD 体系中, $K_1 = (562 \pm 43) \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$, ($r^2 = 0.99$)(见图5), 与核磁共振的结果一致. 表明本方法是可行的. 研究表明, PPO 也与 β -CD 生成 1:1 的二元包合物, 且 $K_1 = (408 \pm 37) \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$, ($r^2 = 0.99$).

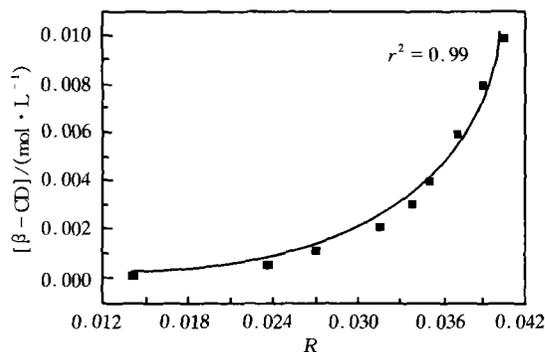


图5 PPD- β -CD 体系 $[CD]_0$ 对 R 拟合曲线

据报道^[1], 当客体分子与环糊精间的作用力主要由疏水作用驱动时, $\ln[K_1]$ 之比等于两分子体积之比^[11]. PPD- β -CD 与 PPO- β -CD 体系的 $\ln K_1$ 之比为 1.06 ± 0.03 . 此值接近于 1, 而 PPD 于 PPO 的体积也几近相同, 说明 PPD 和 PPO 与 β -CD 间主要是疏水作用. 但对于含 N 原子的咪唑分子来讲, 氢键作用力也不可忽视. Troxler 发现带有 2 个 N 原子的 PPD 分子, 即使在水中也只有一个 N 原子参与形成氢键^[12]. 因此可以认为在 β -CD 内腔中, PPD 和 PPO 均只和一个 -OH 形成氢键. 所以这两个体系的结合常数之差主要由疏水作用的细微差别引起.

2.3 三元包合物

对于含有 0.1 mol/L 直链脂肪醇的 PPD 或 PPO, 在变化浓度的 β -CD 溶液中的稳态荧光谱进行了一系列研究. 结果表明, 当 β -CD 浓度相同, 在醇加入前后, 荧光谱图相同. 只不过在正戊醇体系中, 荧光强度比其他醇中更强些. 这表明醇只与 β -CD 作用. 由于正戊醇与 β -CD 结合常数大, 在此体系中, 被环糊精包合的荧光分子的数量更少, 因此其荧光猝灭小. 按生成 1:1:1 三元包合物进行拟合时^[11], 得不到合理结果.

对上述 PPD, β -CD 和 0.1 mol/L 正丙醇或正丁醇三元体系核磁共振谱的研究表明, 加入醇后, PPD 的化学位移值未变化, 说明醇不与 PPD 反应. 比较 PPD 在醇加入前后, 相同环糊精浓度时的 $^1\text{H-NMR}$ 谱, 发现无明显的不同. 只不过在加入醇后, PPD 化学位移值更低. 这表明醇被包合在 β -CD 内

腔, 将 PPD 分子排斥到水相中.

假设 PPD- β -CD-醇体系中不存在三元包合物, 加入的醇只是与 β -CD 作用. 以 PPD 的化学位移, 对与醇反应后 β -CD 的平衡浓度 $[CD]_e$, 根据方程式 (4) 进行非线性拟合, 可得到很好的拟合结果, 且相关系数 $r^2 = 0.99$. 在正丙醇和正丁醇体系中, K_1 的值分别为: $(598 \pm 44) \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$, ($r^2 = 0.99$) 和 $(602 \pm 22) \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$, ($r^2 = 0.99$). 与二元体系 K_1 实验值符合的非常好, 说明加入醇后, 未形成三元包合物.

2.4 对 PPD 和 PPO 分子荧光猝灭的研究

为了更好的研究醇对 β -CD-PPD(或 PPO) 二元体系的影响, 选用 KI 做猝灭剂进行了一系列荧光猝灭实验. 对 KI 的浓度作图, 每个体系均得到线形良好的 Stern-Volmer 图(图略), 各体系所得猝灭常数 K_{sv} 列于表 1 中.

表 1 不同体系 PPD, PPO 分子的猝灭常数 $K_{sv}(\text{mol}^{-1} \cdot \text{L})$

体系	PPD 的 K_{sv}	PPO 的 K_{sv}
水相	32.5 ± 1.0	21.9 ± 0.9
5 mmol/L- β -CD	22.8 ± 0.6	12.0 ± 0.6
5 mmol/L β -CD + φ 1% 正丙醇	23.2 ± 0.8	13.1 ± 0.7
5 mmol/L β -CD + φ 1% 正戊醇	26.6 ± 1.2	14.0 ± 0.9

由表 1 可见, 在荧光分子中加入 β -CD 后, 猝灭常数减小, 说明荧光分子与 β -CD 形成包合物后, 它的激发态受到了保护. 且 I^- 未进入到 β -CD 空腔中, 否则, 由于生成激基复合物, 荧光分子在 β -CD 腔中更易为 I^- 所猝灭^[13]. 加入醇后, 猝灭常数比 β -CD 单独存在时有所增加. 这是因为加入的醇与环糊精作用, 使荧光分子被排斥出 β -CD 腔.

2.5 讨论

综合上述对 β -CD-PPD(或 PPO) 作用的研究, 现对此 1:1 二元包合物的可能结构进行讨论.

Agbaria 等^[4,5]认为, 由于 PPD 分子中间的杂环是亲水的, 因此只有苯环进入到环糊精内腔中. 在此假设的基础上, 他们提出了 PPD- γ -CD 纳米管状聚合物的可能结构. 当浓度很低时, 两个 PPD 分子从 γ -CD 的两端进入, 形成 2:1 的二元包合物(代号为 PCP). 当 PCP 的浓度增加, 它们可彼此连接形成纳米管状聚合物(即 PCPPCP...CP). 由于 β -CD 的内腔很小, 故他们认为 β -CD 不可能和 PPD 等

分子形成 2:1 的包合物. 而且在 β -CD-PPD 体系中, 不可能存在 1:1 的二元包合物, 否则, 浓度大时, 这些包合物会彼此连接, 形成 PCPCPC... 形纳米管状聚合物.

而我们的实验结果说明, 不仅苯环, 而且部分杂环也进入到了 β -CD 腔中. 因为 β -CD 腔已经被占满, 所以它不能进一步结合其他的 PPO 分子生成 1:2 的二元包合物, 也不可能进一步生成纳米管状聚合物. 由此可见, 上述噁唑类分子能否与环糊精形成纳米管状聚合物, 立体选择性起主导作用. 在醇三元体系中, 不存在 1:1:1 三元包合物的事实, 也进一步证明了荧光分子占据了大部分 β -CD 腔, 使得醇无法进入.

参 考 文 献

- Shen X, et al. Quantitative study of the hydrophobic interaction mechanism between urea and molecular probe used in sensing some microheterogeneous media. *J Phys Chem B*, 1997, 101: 8212
- Wenz G. Cyclodextrin as building blocks for supramolecular structures and functional units. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1994, 33: 803
- Li G, et al. Molecular nanotube aggregates of β -, γ -CD linked by diphenylhexatrienes. *Science*, 1994, 264: 249
- Agbaria R A, et al. Extended PPO- γ -CD aggregates emitting PPO excimer fluorescence. *J Phys Chem*, 1988, 92: 1052
- Agbaria R A, et al. Non-covalent polymers of oxadiazole derivatives induced by γ -CD in aqueous solution-fluorescence study. *J Photochem Photobiol A, Chem*, 1994, 78: 161
- Agnew K A, et al. Phase transition pattern of PPO/ γ -CD self-assembly aggregates. *J Photochem Photobiol A, Chem*, 1995, 91: 205
- Pistolis G, et al. Nanotube formation between CDs and 1, 6-diphenyl-1, 3, 5-hexatriene. *J Phys Chem*, 1996, 100: 15562
- Mutsui Y, et al. Internal reference compounds available for the determination of binding constants for cyclodextrin complexes by $^1\text{H-NMR}$. *Bull Chem Soc Jpn*, 1996, 69: 2477
- Schuette J M, et al. Characterization of the β -CD/acridine complex. *J Phys Chem*, 1991, 95: 4897
- Lakowicz J R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. New York: Plenum Press, 1983. 145
- Jiang Y B, et al. Studies on inclusion complexes of CDs by fluorescence anisotropy measurement. *Chem J Chin Univ*, 1991, 7: 961
- Troxler T, et al. Structural measurements of hydrogen-bonded van der Waals dimmers and trimers by rotational coherence spectroscopy. *Chem Phys Lett*, 1993, 211(4, 5): 371
- Hamai S. Association modes of a 1:1 inclusion compounds of β -CD with 1-cyanonaphthalene in aqueous solutions. *J Phys Chem*, 1990, 94: 2595