

中国科学院科学出版基金资助出版

环糊精化学

——基础与应用

童林荟 著

科学出版社

2001

内 容 简 介

环糊精及其衍生物是一类极其重要的化合物,在工业上有广泛的应用,在科学上有极重要的研究价值。本书系统地叙述环糊精化学的基本概念、基本理论、结构、物化性质、制备和修饰方法、表征和分析及应用领域和发展前景,并介绍作者的科研成果和国内外最新进展。

本书可供从事生物有机、生物无机、超分子化学研究、新药设计、生物技术、食品等领域及化学工业、农业等部门的科研和生产技术人员以及大专院校教师、本科生、研究生阅读。

图书在版编目(CIP)数据

环糊精化学——基础与应用/童林芸著.-北京:科学出版社,2001

ISBN 7-03-008490-X

I. 环… II. 童… III. 环糊精-高分子化学 IV. O636.11

中国版本图书馆CIP数据核字(2000)第07787号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717

新蕾印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2001年3月第 一 版 开本: B5 (710×1000)

2001年3月第一次印刷 印张: 25

印数: 1—2 000 字数: 473 000

定价: 48.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

前 言

著者计划写这本有关环糊精化学的书始于 20 世纪 80 年代中期。随着研究工作的不断进展,对环糊精的结构与性质的认识亦逐渐深入;近些年来,大量的实验证明了它在药物剂型、分析技术和临床诊断等方面有实际应用的可能和价值。在基础理论研究方面,环糊精及其衍生物作为天然和半合成人工受体越来越显示出诱人的光彩,环糊精化学在前沿学科领域中与其他学科互相渗透更增加了魅力,与已有的人工受体相比,在基础理论、生产和实际应用方面都更趋成熟。进入 90 年代之后,发表的相关论文、专利、专利应用、会议文摘和专著如雨后春笋,1996 年几乎每天有 4 篇新的关于环糊精文章问世。在生产方面,国外,日本主要的 4 家环糊精生产厂年产量达到 1000 吨;匈牙利仅 CHINOIN 药物化学厂每年就有吨级环糊精包结物出厂。20 世纪 80 年代后期,美国、法国等一些西方国家也相继生产环糊精衍生物;国内,目前已有 β -环糊精生产厂,产品用于药物配制、食品添加剂,并有部分出口。从事基础和应用研究的单位与 10 年前相比亦大有星罗棋布之势。现在有必要尽快出版这本书,向从事和准备从事有关环糊精基础研究和新产品开发的人员介绍、推荐,以促进我国环糊精和相关化学的发展以及高新技术产品的开发。

环糊精(cyclodextrin,简称 CD)早期叫沙丁格糊精(Shardinger dextrin),发现于 1891 年,20 年后第一个包结物问世。1959 年 Cramer 最早评述了环糊精分子内的手性空腔有不对称诱导、选择结合和催化某些有机反应的特性,并明确提出可以作为受体借助分子间力制备包结物,以改变这些化合物的物理化学性质。由 Atwood 和 Lehn 主编于 1996 年出版的系列丛书——《超分子化学总论》(comprehensive supramolecular chemistry)共 11 卷,环糊精是惟一单列分卷,其中详细地评述了环糊精的结构、性质、基础和应用研究发展及生产实用现状。由此可见,环糊精作为人工受体与此后发展起来的冠醚、穴醚、环璜、杯芳烃等大环化合物相比,堪称超分子化学的先驱。母体环糊精可以用生物技术方法大量制备,生产成本上有很大竞争力。本身没有毒副作用,可以在医药、食品、化妆品等方面作为辅剂广为应用,这些都极大地促进了环糊精化学的发展。

超分子化学已发展成概念明确和极具生命力的一个化学前沿学科,其根基可以追溯到早期的受体概念、配位理论和锁-钥学说。20 世纪 60 年代后期聚醚和穴醚的出现以及它们表现出来对金属离子的识别和结合能力,促进了超分子化学的进展。在分子识别、分子间作用力和分子自集的基础上环糊精化学与超分子化学互相滋润,交叉繁殖,并向纳米技术等前沿学科渗透。

本书在编写过程中吸取有关专著的长处,立足环糊精结构、性质特点和实际应用,收入最新成果,力求给以理论解释。在横的方面着眼于超分子化学的新进展,在拓宽的领域中沟通环糊精化学与超分子化学的联系,预示其发展前景。

本书第一章概括了环糊精的发展历史、现状和发展前景;第二章详细介绍环糊精的类别、结构特点和性质。这些是人工受体和超分子结构设计,新材料开发和建立新的物理研究方法的基础,也是开发医药、食品、分析技术等应用的依据。

事实证明,对于设计某些具有优异性能的超分子和分子聚集体,母体环糊精已不能完全胜任。在用于改变某些有机物的物理、化学性质以适应开发新产品、新材料的要求方面也表现出一定的局限性。因此,母体环糊精的修饰、改性和与其他受体的杂化(hybrid)等成为重要的研究课题。本书第三章列举了合成环糊精衍生物的各种途径、常用的方法和效果。

超分子化学已经发展为化学前沿中的一个重要领域,环糊精是首选骨架,用于构筑各种聚集体和复杂的超结构,已发表的研究结果表明,环糊精具备许多独特性质是其他大环化合物无可匹敌的。第四章介绍现今超分子化学最新研究进展中有关环糊精的内容。

环糊精化学、主客体化学和超分子化学在 20 世纪 80 年代后期的迅速发展,得益于许多物理分析方法的进步。只要翻阅一下类似的研究报道,就可一目了然,原有的方法也已注入了新的内容。计算机应用和各种软件的开发,在原有光谱测定基础上发展了差谱、导数光谱和动态谱学研究,时间分辨光谱和停-流技术的应用为研究动态和构象变化提供了可能。二维和多维核磁共振技术的出现,成为研究超分子体系中互相作用和空间结构的重要手段。理论化学和计算(机)模拟,分子动态(MD)和分子力学(MM)在结构和构象研究中的应用为研究超分子化学提供了新手段,环糊精化学的发展使超分子化学研究在理论上提高一步。对于固态超分子体系的测定,X 射线晶体结构研究一直是最有用的工具,粉末衍射技术对于确定包结物的形成和晶型仍然被广泛应用。最新发展的固体核磁技术,对于复杂超分子和分子聚集体的研究无疑是非常重要的。近年一些电化学技术,如环电流、电极测定等方法被引进,为研究超分子内各物种间的互相作用和诱导出的性质提供了又一新手段。最后还应当指出,测定体系热力学参数变化,研究热力学稳定性仍然是设计优异超分子体系、分子聚集体的一个重要依据。在第五、六章中将介绍研究分子识别与结合的最新物理方法。

在第七章中简要地概括了环糊精生成酶的制备。

对映体、立体异构体的分离制备是有机合成操作、新化合物合成中的重要难题之一,与外消旋化合物相比,对映体有其独特的性质和应用价值,尤其是在医药等精细化工(如新药开发)中极有价值。自从各种色谱技术发展之后,特别是制备型装置的出现,使这一问题的解决有了快速进展,Armstrong 利用 CD 分子结构特点和

识别与选择结合有机分子能力,开拓了色谱技术中应用的各种添加剂,表现出极好的基线分离性能,许多已成为商品。本书第八章将着重介绍 CD 在用各种色谱和毛细管电泳技术分析分离对映体中应用的各种方式和可能的机理。生物样品的微量快速诊断技术对于药理研究、临床试验、疾病诊断、刑事案件分析都极为重要。将 CD 的衍生物与一些新技术、新方法结合,成为有效的工具。第八章中将介绍有关这方面现有的进展。

在 21 世纪中生物技术仍然是领头学科,第九章中概括地介绍了环糊精在生物技术、发酵工程中应用的现状,提示这是一个极有潜力的待开发领域。最后在第十章中综述了环糊精作为高新技术产品在开发各种药物包括抗癌药物新剂型、食品添加剂、特殊功能材料生产以及在农业方面的应用。

由于这个领域的研究发展迅速,本书尽可能收入 1999 年前的研究成果与报道。至于国内情况,限于没有完整的检索手段难以收集完全,必有疏漏。著者虽多年从事此项研究工作,但由于水平和时间等条件所限,难免存在欠缺乃至错误,请各界同仁指正。

本书的出版得到中国科学院科学出版基金及中国科学院兰州化学物理研究所所长基金的资助,著者在此谨致谢意。

童林荟

于中国科学院兰州化学物理研究所

第一章 概 论

1.1 环糊精的发现与发展

自 1891 年 Villiers 发现环糊精至今已逾百年,目前它已经发展成为超分子化学最重要的主体,其间包含着众多科学家和科技工作者的智慧和劳动,在回顾环糊精发展史的同时,将提到他们中贡献突出者的名字。Villiers 最早从芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 淀粉杆菌 (*Bacillus amylobacter*) 的 1kg 淀粉消化液中分离出 3g 可以从水中重结晶的物质,确定其组成为 $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ 。由于没有还原性和能被酸分解,叫它“木粉”(cellulosine),当时还不能确证它的结构和许多特殊性质。12 年后, Schardinger 在 1903 年用分离的菌株消化淀粉得到两种晶体化合物,确认它们与 Villiers 分离出的“木粉”是同一种物质。为了区别,把与碘-碘化钾反应生成蓝-灰色晶体的叫作 α -环糊精(α -cyclodextrin),生成红棕色晶体的叫作 β -环糊精(β -cyclodextrin), dextrin 取自 dextrose,后者是葡萄糖的早期名称。这种用碘液反应生成晶体的晶型和颜色判断 α -、 β -环糊精的方法沿用至今。Schardinger 成功地分离出纯芽孢杆菌,取名软化芽孢杆菌 (*Bacillus macerans*),至今仍然是生产和研究中经常使用的菌种。为了纪念他对建立环糊精化学基础的贡献,环糊精也曾叫“Schardinger”(沙丁格)糊精。继 Schardinger 之后在环糊精化学研究中起领导作用的是 Pringsheim,他发现这种结晶性糊精和它的乙酰化产物能结合各种有机化合物生成复合体(complexes),由于使用不适宜的冰点降低法确定分子量,以及许多推测缺乏事实依据,这一时期的研究工作进展很慢^[1]。

环糊精化学的第二个发展阶段大概是从 20 世纪 30 年代中期到 60 年代末。Freudenberg 最先得到纯环糊精,并和他的合作者根据乙酰溴和多甲基化反应产物的水解结果汇同文献报道的数据,提出 Schardinger 糊精是葡萄糖单元以麦芽糖方式结合的环状分子,分子内只含 α -1,4 配糖键。随后于 1936 年提出了这些结晶性糊精的结构。在 1948~1950 年间 Freudenberg 和 Cramer 又发现了 γ -环糊精并确认了结构^[2,3]。1953 年 Freudenberg 和 Cramer 共同获得一项德国专利,文中概括了目前在药剂中应用的重要方面^[4]。在这一时期平行加盟此项研究的还有 French^[5]和 Cramer^[6]两个研究组,他们分离、表征了环糊精的物理化学性质,指出还可能存在环更大的分子以及与其他有机分子生成的复合体。这一时期的研究结果使人们认识到环糊精极有可能应用于工业。虽已建立实验室规模制备工艺,但由于对毒性的判断尚存在争议,妨碍了在应用领域中的开拓研究。

从 20 世纪 70 年代初到现在,环糊精化学的研究进入了顶盛时期。在有法定资格的单位出示毒理学研究结果之后,消除了人们的疑虑,从此发表的有关环糊精的研究论文数目逐年上升,根据统计在 1970~1997 年的 27 年间,共发表 13000 篇有关环糊精的论文、专利和会议摘要。

在 20 世纪 60 年代中期,从事淀粉科学研究的 Szejtli^[7]将兴趣转向环状低聚糖领域。Szejtli 说服 CHINOIN 药物化学工厂于 1971 年组建了生物化学研究实验室(BRL),开展环糊精在可能应用领域——药物、食品、化妆品、分析化学领域的研究,并开始作为 CHINOIN 拥有的附属机构,到 1988~1991 年发展为财政独立的公司,最后于 1991 年成为 CYCLOLAB 股份有限公司,一个独立的由受雇者与 CHINOIN/SANOFI 合股拥有的公司。Szejtli 任总经理兼研究导师,推出了大量在食品、医药等领域的应用技术,被国际同行冠以“环糊精之父”的美誉^[8]。

在早期环糊精化学的发展中处于默默无闻中的日本,从 20 世纪 60 年代末起,成为活跃的研究基地。Horikoshi^[9]于 1971 年左右发现了碱性微生物,在碱性发酵条件下分离出环糊精转葡萄糖基酶(cyclodextrin glucosyl transferase,CGTase)。在 70℃,pH9,不用溶剂生产 β -环糊精,收率达到 75%~80%。此项发明于 80 年代初由日本化工公司投入生产, β -环糊精的市场价格从而大幅度下降。Kobayashi^[10]致力于 α -环糊精生成酶作用机理的研究,提出了用软化芽孢杆菌生产 α -环糊精的最佳工艺。在 Kobayashi 等人研究的基础上,盐水港精糖公司(Ensuiko Sugar Refining Co., Ltd.)建立了由超滤膜反应器组成的连续生产工艺,由于采用稀淀粉溶液为底物,提高了产品收率。该项工艺于 1982~1983 年间以月产 10 吨规模投入生产^[11]。长期以来困扰人们的 γ -环糊精价格居高不下的难题也出现了解决的希望。德国的 Wacker-Chemie 公司,通过筛选得到一株分泌 γ -环糊精生成酶的碱性杆菌 *Bacillus Firmus* 290-3。用遗传工程方法克隆 γ -环糊精酶的遗传因子使酶的收率提高, γ -环糊精的价格可能降到 β -环糊精的水平。

我国环糊精的研究始于 20 世纪 70 年代末,中国科学院兰州化学物理研究所、微生物研究所及江苏食品发酵研究所、上海医药工业研究院先后开展环糊精生成酶和制备环糊精的研究工作。到目前为止, β -环糊精已工业规模生产, α -环糊精尚无工业级产品,只有以 α -环糊精为主成分含大量淀粉降解物的混合环糊精能推入市场。

有许多微生物产环糊精生成酶,关于这部分将在第七章中详细介绍。目前世界上环糊精的年总产量超过 1000t, β -环糊精价格从 1970 年的 2000 美元/kg(只能作精细化学材料出售),降到今天的几美元/kg。 α -、 γ -环糊精和一些修饰环糊精,如羟丙基- β -、 γ -环糊精、无规甲基- α -和 β -环糊精,麦芽基- β -环糊精,乙酰基-环糊精都已以工业规模生产。最近又开发出反应性 β -环糊精,可望在纤维纺织工业中开发应用的途径。各种环糊精和修饰环糊精不断问世并投入市场,为开拓新的应用领域提供

了可能。

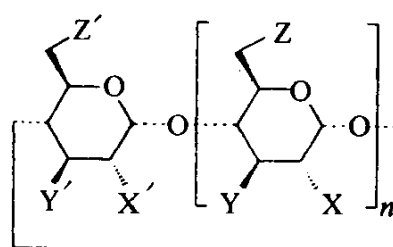
环糊精化学基础研究最早涉及的范围包括:催化高选择反应、类酶催化反应和不对称催化反应^[12]。随着技术科学的发展,各种研究手段不断推陈出新。学科间的交叉渗透为深入探究和拓宽环糊精化学的研究创造了条件。最先提出仿生化学(biomimetic chemistry)一词的 Breslow^[13]在人工酶结构设计和研究方面成就卓著,因和他的合作者提出 RNA 选择裂解环磷酸酯和转氨酶的模型而著名。模型暗示在设计人工酶结构的时候,要设法构筑协同作用体系。除人工酶外,人们开始注意到用环糊精构筑非酶催化生物模拟体系,如双桥基咬合 β -环糊精二聚体^[14],结合丙二醇对特丁基苯甲酸二酯的稳定常数高达 $(1.0 \pm 0.1) \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,接近抗体-抗原的结合强度。对于分子形状匹配的刚性底物,其结合常数可以超过 $10^{11} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。最近,Lehn^[15,16]建立了用蔡发色基团全修饰 β -环糊精伯羟基的能量传递体系,具有天线功能,将汇集的光能传递给结合在空腔内的部花菁,显示了光合成中心的重要性质。

环糊精分子中包含众多化学反应性相同的羟基,这些可修饰和可生成氢键的基团与邻近的疏水空腔共存,既给各种模型设计带来机会,也同时给合成化学家带来挑战,也就是如何确定选择修饰方案。V. T. D'Souza 提出的 C-2 仲羟基选择修饰方法^[17]以及对于 C-2, C-3, C-6 位羟基选择修饰的路线^[18]指出了解决这一问题的途径。

70 年代以来环糊精化学的快速发展并成为构筑超分子的重要主体,得益于技术科学的进步。各种新分析技术的完善和新仪器的出台,吸引了各领域科学家的关注,推动了环糊精化学的发展,其中具有代表性并已积累一定经验的是 2D NMR^[19]、X 射线晶体衍射^[20,21]和环糊精结合客体过程热力学函数的变化^[22]。提供的数据可以判断溶液中或固态由环糊精或修饰环糊精与相应客体形成复合体的拓扑形态、各原子或基团的空间排布,从中了解结合过程诱导的构象变化,和形成复合体产生的新功能。在收集、分析大量热力学数据的基础上,提供了从更总括的观点讨论和认识各种有机、无机客体被环糊精或修饰环糊精结合的性质以及控制超分子互相作用的因素。

环糊精和修饰环糊精的命名是一个棘手的问题,尤其修饰环糊精的命名目前仍处于混乱状态,随着更复杂基团的引入,在论文中出现了多种命名方式。最常见的 3 种母体环糊精,以 α -环糊精为例曾用名有:沙丁格 α -环糊精(Schardinger's α -dextrin)、环麦芽己糖(cyclomal tohexaose)、环己葡聚糖(cyclohexaglucan)、环己淀粉(cyclohexaamylose)、 α -CD, ACD 和 C6A 等。目前公认和绝大多数情况下采用的是 α -环糊精(α -cyclodextrin)。1996 年曾公布推荐使用碳水化合物新命名规则^[23],该规则是在 1969 年由 IUPAC 有机化学命名委员会与 IUPAC 生物化学命名委员会联合提出的碳水化合物命名试行规则基础上扩展起来的,并代替 1969 年

的试行规则^[24]。按 1996 年推荐的碳水化合物命名规则(以下简称命名规则, 1996), 由单一低聚糖单元组成的环状低聚糖的半系统命名法是, 词头“cyclo”(环)在先, 接下来是表明键型的术语, 如对于 α -(1 $\rightarrow$ 4)-键合葡萄糖单元用“malto”, 其后是单元数, 如 6 用“hexa”, 最后是词尾“ose”(糖), 例如俗称 α -环糊精的半系统命名是 cyclomaltohexaose。实际上这种命名法并不确切, 因为“Malto”是二糖, 可以被误认为是含 12 个葡萄糖单元的环糖。修饰环糊精的命名比较复杂, 单修饰环糊精(式 1-1)($Z=X=X'=Y=Y'=\text{OH}$, $Z'=\text{OAc}$, $n=5$)的俗称是单(6-O-乙酰基)- α -环糊精[mono(6-O-acetyl) α -cyclodextrin]。单修饰环糊精($Z=X=X'=Y=Y'=\text{OH}$, $Z'=\text{NH}_2$, $n=5$)的俗称是单(6-氨基-6-去氧)- α -环糊精, 按“命名规则”它的半



式 1-1

系统名称是 6'-amino-6'-deoxy-cyclomal tohexaose(6-氨基-6-去氧-环麦芽己糖)。修饰环糊精($Z=Z'=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $X=X'=Y=Y'=\text{OH}$, $n=6$)的俗称可以简写为七(6-氨基乙基-6-去氧)- β -环糊精[heptakis(6-aminoethyl-6-deoxy)- β -cyclodextrin]。目前有少数文章仍采用美国化学会化学文摘命名法(Chem. Abstr., 8th Coll. Subject Index, 1967-71, American Chemical Society, Columbus, Ohio, 1972, pp. 8952~8953), 将修饰环糊精($Z=Z'=\text{Cl}$, $X=X'=\text{OH}$, $Y=Y'=\text{CH}_3$, $n=6$)命名为 $3^A, 3^B, 3^C, 3^D, 3^E, 3^F, 3^G$ -hepta-O-methyl- $6^A, 6^B, 6^C, 6^D, 6^E, 6^F, 6^G$ -hepta-chloro- $6^A, 6^B, 6^C, 6^D, 6^E, 6^F, 6^G$ -hepta-deoxy- β -cyclodextrin^[25], 至 1996 年美国化学会志发表的文章都还允许采用上述命名法。单一的二取代环糊精($Z=\text{NH}_2$)简单命名为 $6^I, 6^I$ -二氨基- $6^I, 6^I$ -二去氧- β -环糊精($6^I, 6^I$ -diamino- $6^I, 6^I$ -dideoxy- β -Cyclodextrin, 上标 $6^I, 6^I$ 表示取代基位于相邻的两个葡萄糖单元的 C-6 位)。取代基含不对称碳的单修饰环糊精[$Z'=\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $Z=X=X'=Y=Y'=\text{OH}$]的名称是 6-O-[(R)-2-羟丙基]- β -环糊精{6-O-[(R)-2-hydroxypropyl]- β -cyclodextrin}^[26]。当修饰基团结构很复杂时, 多数情况下用缩写符号代替或用阿拉伯数字代替。

第一届环糊精国际专题讨论会于 1981 年在匈牙利布达佩斯召开, 第四届会议 1988 年于德国慕尼黑召开, 此后每两年一次已成为例会。国内大环化学会每两年举行一次, 环糊精作为主要议题之一, 已成功举办 9 次例会。

1.2 未来的环糊精化学

1.2.1 概念和范围

在大量实验数据和研究结果的基础上,有关分子识别的基本概念应当作适当的修正。早期关于酶作用机理的两个理论:锁-钥学说和诱导-契合学说,前者把分子看作在识别与结合过程中不发生任何构象变化的刚体,后者则强调柔性的部位在底物诱导下发生构象变化,形成完全匹配的恰好嵌合的结合位,这些理论的出发点仅从大分子受体和底物的分子拓扑形态出发考虑问题。事实上,环糊精作为主体的分子识别和结合是一个复杂的过程,它包括分子拓扑几何学、电荷分布、亲脂性图等等。环糊精是一个相对大和相对柔性的分子,有许多可旋转的键和羟基,而且常常是在水介质中进行实验,分子具有许多构象状态。由于上述一些原因,尽管已有的研究结果有限,但已意识到应当用计算(机)化学从理论上深入研究环糊精(在固体状态、溶液中)本身,乃至识别与结合其他分子形成复合体的结构和性质:结合的能量、包结复合体的结构,以帮助解释诱发谱学变化的原因以及如何进行分子识别的机理。

关于环糊精化学的范围,长期以来仅限于常用的 α -、 β -、 γ -环糊精。虽然在20世纪50年代就已证明存在大于8个吡喃葡萄糖环的 δ -、 ϵ -、 ζ -、 η -环糊精,直到进入90年代之后才陆续证明这些环更大的环糊精的构象和性质。大环分子借助非共价键相互作用,识别与结合各种底物,这种奇妙的性质给化学家以机会,可以设计优异的分子受体,像生物体中存在的环肽、抗生素。而环糊精的各种惊人性质和糖类的生理活性,诱发化学家去创造种类繁多的环状低聚糖,它们的组成单元不限于 α -D-吡喃葡萄糖,而是扩展到用化学法由 α -D-吡喃阿卓糖、 α -D-吡喃甘露糖等以 α -(1 $\rightarrow$ 4)键连结的环状低聚糖,以及以环(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 2), (1 $\rightarrow$ 6)键连接的低聚吡喃糖苷。随后又合成出由L-糖和L-,D-吡喃糖交替组成的环状低聚糖等等。这些从二糖衍生物通过环二聚生成环葡四糖到由17个乃至更高葡萄糖基组成的环状低聚糖,它们的大环拓扑多种多样,不仅为生物药物和材料科学方面的应用扩大了范围,其合成操作也为新超分子构筑提供了方法^[27,28]。

1.2.2 技术路线和物理方法

毫无疑问,现代化学家(不管哪一学科领域)要想向纵深发展都有赖于物理方法和技术科学的进步。仔细分析环糊精化学各阶段所发表的论文和专著就可得出以上结论。按传统的物理方法并与现代技术相结合,可以预见,建立和完善以下研究方法,有助于在更深层次上认识由环糊精、修饰环糊精及其类似物所进行的识别与结合的本质。

(1) 现代技术发展已经有各种时间分辨光谱仪(紫外-可见、荧光、旋光光谱)诞生,能在秒和毫秒时间范围内跟踪光谱变化。所得数据对于了解在 10^{-3}s 进行的结合反应的动态过程十分重要。高场核磁共振仪可以测定弛豫时间和各种参数对时间的变化,用以描述分子运动。

(2) 测定环糊精、修饰环糊精分子和分子内空腔的偶极、电磁等物理量和结合客体后这些物理量的变化,判断生成复合体驱动力性质和生成稳定复合体分子间相互作用力。

(3) 用高分辨率电子显微镜和隧道电子显微镜观察构筑的超分子聚集体,虽然只有极少报道,但却开辟了从原子和分子水平上返回来在总体上研究超分子聚集体结构的途径。

(4) 开展计算机化学的研究,将理论计算和实验观察结合起来。这里所指计算化学也还是实验的,而并非纯理论计算。借助计算机分子设计得到环糊精和环状低聚糖的三维几何学图形和接触表面并显示空腔尺寸,所提供的分子亲脂性图有助于了解包结复合的能力。采用分子力学(molecular mechanics, MM)和分子动态(molecular dynamics, MD)研究构象、结构和动态进行分子模拟。从分子力学计算得到的能量与环糊精结合客体前后焓、熵、自由能变化,判断结合的驱动力。

1.2.3 学科间的互相渗透

在第四章中将详细评述以环糊精分子为骨架构筑的各种超分子和超分子聚集体。各种各样的超分子聚集体表现出的性质是设计分子器件和纳米材料的基础,重要的是突破技术关。今后几年之内,这些超分子和超分子聚集体的另一热点,预计主要与生物酶学和抗体-抗原互相作用相关,在基础理论和临床诊断试剂方面有可能找到突破点。

环糊精化学与无机化学的结合和渗透,研究得不多也缺乏系统性。已报道的母体环糊精与铜、锂、铅形成的高结构化,均匀的自集体(第六章)和金属配位基修饰的环糊精都显示具有特殊的功能(第四章)。合成各种含金属配体的修饰环糊精和由第二配体通过自集形成高结构化的超分子统一体,研究它们的生物功能预期会有新进展。各种天然无机材料,如沸石、各种孔径的分子筛,通过共价或非共价力与环糊精结合开发新材料,研究其结构与性能,是介入得比较少的领域。

1.2.4 开辟新的应用领域

(1) 在生物技术中应用环糊精,能保护酶不受体系中有毒物质的侵害,达到提高收率的目的。利用环糊精生成酶(CG Tase)转移葡萄糖基作用改造某些天然产物的性质已在发酵工程中应用,目前涉及的范围不广,是一个值得继续扩大研究的领域。

(2) 环糊精和修饰环糊精作为药物载体,从研究论文、专利发表的数量来看居于首位,据 1996 年统计占“Cyclodextrin News”期刊上发表摘要总数的 24.62%,但实际采用的研究结果却不多。这一方面因为一种新药、新剂型得到认可,需要相当时间的考察,也因为已有的环糊精和修饰环糊精在诱发溶血活性上还存在问题。新近研制出的环糊精磺酸酯和磺丁基醚,连同早期合成的羟烷基环糊精的生物相容性好,可以加快在这个领域中的应用和推广。环糊精药物载体研究的新动向是建立肽、蛋白输送体系和特殊位置输送体系。生物技术的快速发展已能大规模生产生物药物,如有疗效的活性肽和蛋白用于身体不适引起的病症。这种由于分子生物学快速发展而产生的新药目前尚无相配的处方。环糊精不仅能依尺寸和形状识别,也能识别氨基酸的手性,这将改变或影响其三维结构,或由于抑制分子间的缔合作用而改变生物学性质,如亲水 CDs 影响重组人工生长荷尔蒙的三维结构。CDs 可以增溶和稳定各种生物药物中重要的肽、蛋白质。在实际应用之前要克服一些障碍:包括这些药物对化学试剂或酶的稳定性、通过生物膜的吸收情况、血液中快速排除,以及特有的剂量应答曲线和致免疫性。CDs 作为药物的特殊位置输送载体是目前积极努力研究的课题。脑靶中应用的一个例子是 N-亮氨酸脑啡肽的 C-端羧基与 6-氨基-6-去氧- β -环糊精偶联,最后将剩余的羟基全甲基化以增加疏水性。另外一种靶载体是结肠靶,从本质上说,结肠靶是属于有很长滞后时间的延迟释放,要求药物口服后 8h 到达结肠,一个实例是合成联苯乙酸以酯键或酰胺键与环糊精 C-6 位相连的药物前体,口服 8~9h 后血液中药浓度达到最大值,由于在这种滞后时间情况下,药物恰好可以到达结肠,而药物本身在服用后的 1~3h 血液中药水平即已达到最大值。最后要提到的是细胞表面靶,细胞间的识别作用是生物过程中的基本事件,在这个过程中,细胞表面糖蛋白或外源凝集素的低聚糖可以应答细胞-细胞识别和粘附作用。因此,带有小分子糖结构的修饰环糊精可以用作传递活性药物的载体,将这些药物分子输送到细胞表面的糖受体如凝集素。按照这种设想合成了含单糖或二糖的修饰环糊精,如葡萄糖、乳糖、甘露糖、果糖等的修饰环糊精,并研究了与糖特殊受体的结合特性。这些糖修饰 CDs 可以提供药物选择释放的新途径,并将其选择输送到一些组织的特殊细胞表面。

(3) 在工业应用方面。长期以来环糊精主要消耗在食品添加剂、制备即时调味品,以及包结香精和化妆品中成分。Wacker-Chemie 在 1996 年开发生产出活性环糊精,仿照活性染料的结构用通常采用的浸染、轧染工艺将环糊精固着到纤维素、毛和各种合成纤维表面。再经过处理即可得到有香味、药效、防腐等性能的纤维材料,用于装饰、治疗、包装材料。

(4) 环糊精或修饰环糊精在水溶液中能够通过自集组建成高结构化、均一的超分子聚集体,也叫机械互锁化合物。从最近几年的研究结果已得到惊人的发现,由环糊精构筑的轮烷和索烃不仅提供了迷人的拓扑形态,也表明这些超分子体系

可能在纳米技术中应用。通过对它们的研究可以获得如何从人们生活的宏观世界去描绘分子机械的微观世界的方法。在这一领域的研究虽然历史不长,但极具诱惑力,目前虽仍处于基础研究阶段,但极有希望开发出新材料。

参 考 文 献

- [1] J. Szejtli, *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, J. L. Atwood, J. -M. Lehn, Eds.; Vol. 3, Cyclodextrins, Chapter 1, Pergamon: Oxford, U. K., 1996, p. 1
- [2] J. Szejtli, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1743
- [3] F. Cramer, *Proceedings of 1st International Symposium on Cyclodextrins*, Budapest, 1981, Reidel, Dordrecht, 1982, p. 3
- [4] K. Freudenberg, F. Cramer, H. Plieninger, *Ger. Pat.*, 1953, 895, 769
- [5] a) D. French, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 1957, 12, 189
b) D. French, M. Levine, J. Pazur, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, 71, 356
- [6] F. Cramer, *Einschlussverbindungen*, Springer-Verlag, 1954; F. 克莱末, 包结化合物, 李森译, 北京, 科学出版社, 1963
- [7] Foreword Ed. Lajos Szenté, *J. Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 1994, 18, 207
- [8] V. T. D'Souza, K. B. Lipkowitz, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1974
- [9] K. Horikoshi, N. Nakamura, N. Matsuzawa, M. Yamamoto, *Proceedings of the 1st International Symposium on Cyclodextrins*, Budapest, 1981, Ed. J. Szejtli, Reidel, Dordrecht, 1981, p. 25
- [10] a) 小林昭一、贝沼圭二、铃木繁男, *淀粉科学*, 1975, 22 (1), 6
b) S. Kobayashi, K. Kainuma, *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, 1981, 28(2), 132
c) S. Kobayashi, *Denpun Kagaku*, 1993, 40(2), 103
- [11] H. Hashimoto, *Denpun Kagaku*, 1989, 36(1), 35
- [12] M. L. Bender, M. Komiyama, *Reactivity and Structure Concepts in Organic Chemistry*, K. Hafner, J. -M. Lehn, Eds.; Vol. 6, *Cyclodextrin Chemistry*, Springer-Verlag, 1978
- [13] a) R. Breslow, *Chem. Soc. Rev.*, 1972, 1, 553
b) R. Breslow, *Acc. Chem. Res.*, 1980, 13, 170
- [14] R. Breslow, S. Chung, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 9659
- [15] L. Jullien, J. Canceill, B. Valeur, E. Bardez, J. -M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1994, 33, 2438
- [16] L. Jullien, J. Canceill, B. Valeur, E. Bardez, J. -P. Lefavre, J. -M. Lehn, V. Marchi-Artzner, R. Pansu, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 5432
- [17] a) David Bradley, *J. Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 1992, 14, 357
b) A. R. Khan, L. Barton, V. T. D'souza, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1992, 1112
- [18] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1977
- [19] H. J. Schneider, F. Hacket, V. Rüdiger, H. Ikeda, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1755
- [20] W. Saenger, J. Jacob, K. Gessler, T. Steiner, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S. M. Smith, T. Takaha, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1787

- [21] K. Harata, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1803
- [22] M. V. Rekharsky, Y. Inoue, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1875
- [23] A. D. McNaught, *Carbohydr. Res.*, 1997, 297(1), 1~92
- [24] *Biochem. J.*, 1971, 125, 673~695
- [25] M. N. Berberan, J. Canceill, J.-C. Brochon, L. Jullien, J.-M. Lehn, J. Pouget, P. Tauc, B. Valeur, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 6427
- [26] K. Harata, C. Trinadha, Rao, J. Pitha, *Carbohydr. Res.*, 1993, 247(1), 83
- [27] G. Gattuso, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Rev.*, 1998, 98, 1919
- [28] S. A. Nepogodiev, G. Gattuso, J. F. Stoddart, *J. Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 1996, 25, 47

第二章 环糊精的结构与性质

在第一章中曾概括提到环状低聚糖家族的各种类型：环糊精和它们的类似物 (analogues)。本章详细讨论母体 α -, β -, γ -CD 的结构与性质，对于这个家族中的其他环状低聚糖、分支环糊精与修饰环糊精的结构与性质将在第三章中给予具体的表述。

2.1 环糊精的结构与化学性质

2.1.1 化学结构特点

CDs 是 CGTase 作用淀粉的产物，在认识 CDs 的结构之前应当对底物淀粉的结构有基本的了解。直链淀粉在溶液中的构象既不是伸展的像拉直线圈那样的结构，也不是刚性棒状的全螺旋结构，而是一种含有序螺旋段的结构。组成的每一个 α -D-吡喃葡萄糖单元都是 4C_1 椅式构象，只有 α -1,4 型一种配糖键，淀粉螺旋段的每一重复含 6~7 个吡喃葡萄糖单元。当直链淀粉被 CGTase 降解没有水分子参与的反应时，即得到系列由 6, 7, 8... 个吡喃葡萄糖单元以 α -1,4 键合的环状产物。由于组成的每一个吡喃葡萄糖单元都是 4C_1 构象，所有仲羟基都排在环状分子的一个边缘，而伯羟基都排在另一个边缘。为了更直观地了解 CDs 分子结构，通常

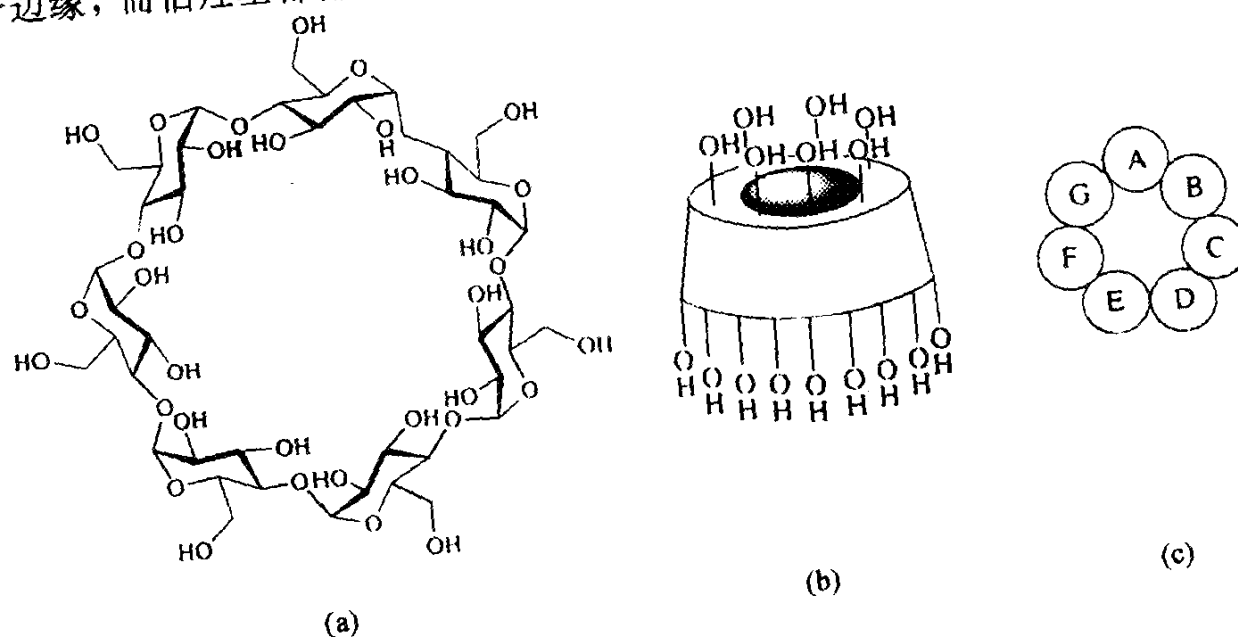


图 2-1 β -CD 的分子结构表达式

(a) β -环糊精 (b) 桶状外形, 顶部表示伯羟基, 底部表示仲羟基 (c) 伯羟基侧标记式

采用一种形象表达方式[图 2-1 (b)]。实际上整个分子成锥柱或截顶圆锥状花环。空腔内部排列着配糖氧桥原子,氧原子的非键合电子对指向中心,使空腔内具有很高的电子密度,因而表现出某些路易斯碱的性质。吡喃葡萄糖环 C-3,C-5 氢原子位于空腔内并覆盖了配糖氧原子,使空腔内部成为疏水性空间。计算机软件快速发展,为人们提供了借助计算机设计分子的可能,图 2-2 的分子亲脂性模型(molecular lipophilicity patterns, MLPS)就是利用 MOLCAD 程序(计算机分子

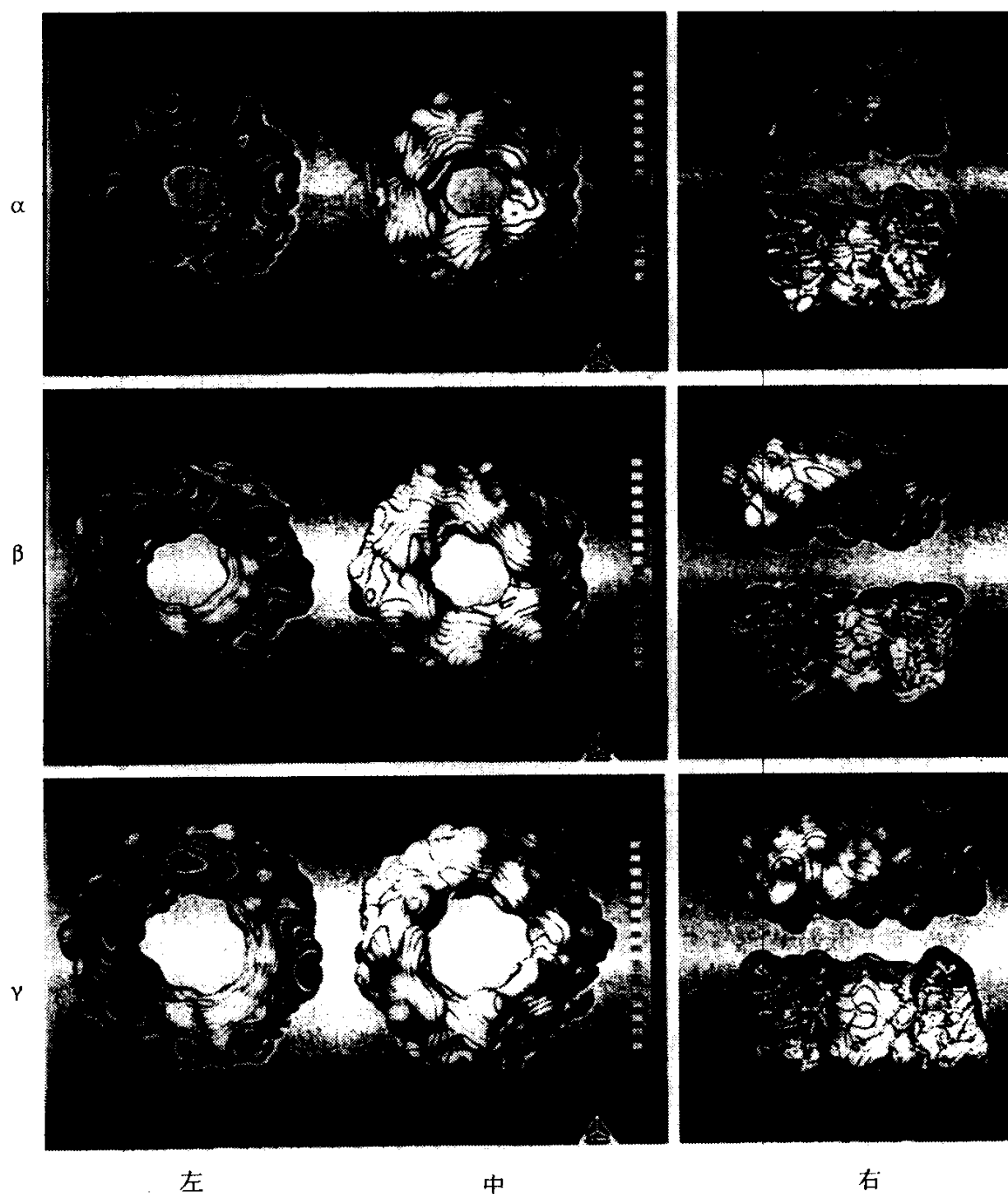


图 2-2 用 MOLCAD 程序计算的分子亲脂性模型^[1]
左:仲羟基侧俯视图 中:伯羟基侧俯视图 右:侧视及其剖面图

设计, molecular computer aided design)得到的^[1]。密度最大的是亲水性最强的区域, 密度最小的是疏水表面区。侧面剖视图描绘了空腔内表面的疏水/亲水区分布。模型对于判断生成包结物的能力是有价值的。C-2 处的羟基易与相邻吡喃葡萄糖单元的 C-3' 羟基形成氢键, β -CD 分子内生成环形全氢键带使分子具有相当的刚性, 而且是这一族内水中溶解度最低的一个。 α -CD 的一个吡喃葡萄糖单元处于扭曲状态, 6 个吡喃葡萄糖单元之间只生成 4 个氢键。在研究比旋光度与构象之间的关系时, 发现在 DMSO 中 α -CD 比旋光度的计算值与测定值完全一致, 但在水中每个吡喃葡萄糖单元差 30° , 在结合饱和碳水化合物后, 此差异消失。说明在水溶液中 α -CD 大环构象歪曲, 而在 DMSO 中则是圆形^[2]。环大的 CDs 具有更高的柔性, 在 α -, β -, γ -CD 系列中, γ -CD 的非共平面结构使之更具柔性, 是 3 个 CDs 水中溶解度最大的。¹H NMR 研究发现在像水这样的质子溶剂中, 溶质与溶剂的分子间交换对于 NMR 的时间范围来说太快, 以致不能观察到分离的 OH 信号。在 DMSO 中可以观察到分离的 OH 信号, C-3—OH 和 C-2—OH 共振在 5.2 和 5.6ppm 间, 与游离的更加去屏蔽的 C-6—OH 明显分离, 这些 C-6—OH 共振位于 4.2 和 4.4ppm 之间(见第五章)。研究 DMSO 中 CDs 羟基质子共振对温度的依赖性, 结果所有羟基质子信号在升高温度时都移向高场并存在线性关系, 说明这些羟基与溶剂间的氢键相对很弱。对于所有 C-6—OH 质子, 温度系数与甲基 α -D-葡萄糖苷在同一范围, 证明 C-6—OH 不参与形成分子内氢键, 温度系数大小顺序是 α -CD < β -CD < γ -CD。

2.1.2 对热、酸、碱的稳定性

环糊精像淀粉一样, 可以贮存多年不变质。CDs 在碱乃至强碱性溶液中都是稳定的, 但酸可使 CDs 部分水解生成葡萄糖和系列非环麦芽糖, 产物可用纸色谱、梯度冲洗色谱等方法证实。CDs 由于没有还原末端, 对酸的稳定性比线状糊精高 2~5 倍, 可见环状分子配糖键的开裂是一个慢过程, 而且初始阶段的水解速度比终了阶段要慢得多。用测定水解物还原能力增加值的方法确定了不同温度和酸度下的 β -CD 酸水解速度常数^[2~4], 结果列于表 2-1。

表中 k_{lin} 是线形糊精水解最终阶段的速度常数, 准确地说是麦芽糖的水解速度常数; k_{cycl} 为 CDs 水解开环速度。表中数据是从 β -CD 酸水解速度 $\lg$ 图[作不同温度、酸浓度的 $\lg(1-\rho)$ 对 $t(\text{min}^{-1})$ 图]和从每个实验值计算得到的 k 值对 $\rho\%$ 作图并外推得到的 (ρ = 实际还原能力/可达到的最大还原能力)。结果, 说明在一定温度下, 降低酸浓度或固定酸浓度降低反应温度都可以减缓 CDs 水解速度。为了阐明 CDs 分子内配糖键对酸的稳定性, 与链状低聚糖对比, 研究了 CDs 在 $0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液中 70°C 下的酸解作用^[5]。溶液中残留 α -, β -, γ -CD 的量分别以甲基橙和酚酞作指示剂, 用分光光度法确定。 $\lg[\text{CD}]$ 对 t 有线性关系, 计算得到