

分类号 O62
UDC

密级
编号 B978004404

中国科学院
博士学位研究生学位论文

新型荧光化学敏感器的合成及性质研究

解宏智

指导老师: 吴世康 研究员
中国科学院感光化学研究所

申请学位类别: 博士学位 学科专业名称: 有机化学

论文提交日期: 2000 年 6 月 11 日 论文答辩日期: 2000 年 6 月 19 日

学位授予单位: 中国科学院感光化学研究所

答辩委员会主席:

分类号 062
UDC

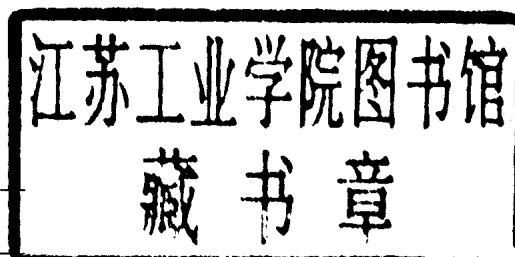
密级
编号 B978004404

中国科学院 博士学位研究生学位论文

新型荧光化学敏感器的合成及性质研究

解宏智

KG21 / 03



指导老师: 吴世康 研究员
中国科学院感光化学研究所

申请学位类别: 博士学位 学科专业名称: 有机化学

论文提交日期: 2000年6月11日 论文答辩日期: 2000年6月19日

学位授予单位: 中国科学院感光化学研究所

答辩委员会主席:

摘要

分子识别是超分子化学的一个重要方面。它是分子传递和酶催化的基础。以分子识别为基础,设计和合成有光谱响应的荧光化学敏感器和离子显色试剂在生物化学、临床医学、环境科学等与人类生命科学密切联系的领域中有着很强的应用背景。本文系统总结了环糊精对有机分子的包结特征和包结作用对客体分子光物理性质的影响,以及荧光团化学修饰环糊精在分子识别研究中的发展状况。考虑到当前分子识别研究中的另一问题,即发展对阴离子物种有选择性响应的荧光化学敏感器和显色试剂,本论文还总结了目前在设计和合成阴离子接受体方面的发展状况和特点。本工作对以下两个部分进行了研究。

第一部分 以查尔酮修饰的环糊精荧光化学敏感器的设计、合成及性质研究

- 一、合成和表征了新的荧光化学敏感器—单个二甲氨基查尔酮通过氮杂烷氧链联结于 β -环糊精的 C-6 位置上的环糊精衍生物(DMAC-CD)。对该化合物在水溶液中的光谱光物理行为和分子识别作用进行了较详细的研究。结果表明,该化合物的发光行为强烈地依赖于其所连查尔酮所处环境的极性,它在水溶液中因强烈的“自包结”构象而呈现强荧光,但当与外来物种如 1-金刚烷酸或茚酮相结合时导致查尔酮被逐出 CD 内腔,引起荧光减弱。而线状客体分子如表面活性剂分子则易插入到 CD 内腔中,并与“自包结”化合物形成所谓的“三元”包结配合物,从而给一种新的主客体识别模式的形成提供了机会。
- 二、研究了上述查尔酮修饰环糊精在不同醇/水混合溶剂中的光谱行为,并与非化学修饰的 β -CD/查尔酮分子混合体系进行了比较研究。根据其荧光光谱特征(峰值波长和发光强度)的变化,明确地显示出二者间的差异。并对上列体系在外界环境极性变化过程中多元配合物的形成和解离;不同醇类化合物因极性与尺寸上的差别而给包结行为带来的影响、进而显示出光谱行为的变化等进行了深入的研究和讨论。结果表明,醇/水混合溶剂中的醇含量较低时,醇分子一般会插入到 CD 内腔之中并与包结的查尔酮部分形成多元包结体系;而当醇含量达到一定程度时,因 CD 腔外溶液体相极性下降,使主客体疏水相互作用变弱,包结在 CD 内腔的物种就会与 CD 解离。同时还发现,化学修饰的环糊精所连发色团与 CD 形成的“自包结”配合物较相同发光分子与非修饰的环糊精形成的包结物具有更强的结合能力。
- 三、合成了系列的含有不同氮杂烷氧链的查尔酮衍生物。利用稳态荧光和时间分辨荧光技术研究了该类查尔酮衍生物以及上述查尔酮修饰的环糊精衍生物与过渡金属离子间的相互作用。结果表明,除三价铁离子,不含 CD 的查

尔酮衍生物与过渡金属离子因发生光诱导电子转移而使其荧光猝灭, 并符合动态猝灭机制, 且金属离子的猝灭能力与其氧化电位大小顺序一致; 三价铁离子可以和查尔酮的羰基部分发生配位作用, 因而实验观察到的是动态猝灭和静态猝灭的综合结果; 而查尔酮修饰的环糊精与过渡金属离子发生了强烈的配位作用, 它们之间的荧光猝灭过程符合静态猝灭机制。该查尔酮修饰的环糊精可以作为新的荧光化学传感器测定较低浓度的过渡金属离子, 特别是 Cu^{2+} 。

第二部分 对阴离子进行选择识别的荧光化学传感器和离子显色试剂的研究

- 一、合成了含有 1~3 个萘基取代的脲类柔性开链化合物。通过对该类化合物在溶液中的光物理行为以及酸度影响的比较研究, 观察到以叔胺为骨架的三足化合物存在分子内光诱导电子转移 (PET), 且这一过程强烈地依赖于介质的 pH 值; 叔胺基的氮原子质子化将会减弱这一 PET 过程。
- 二、在设计合成六种萘取代的脲及硫脲类多足开链化合物的基础上, 利用吸收光谱、荧光光谱及 ^1H NMR 波谱手段详细研究了该类化合物作为主体分子与不同种类阴离子客体分子间的相互作用。实验表明, 客体阴离子 H_2PO_4^- 及 HSO_4^- 可以与三足的脲及硫脲主体分子形成主客体配合物从而诱导主体分子光物理性质发生变化, 而且表现出较好的选择性。测定了主客体配合物的稳定常数和化学配位比, 对三足脲和硫脲与阴离子客体的选择性和识别作用进行了研究, 提出了相应的主客体配合物可能的配位方式和结构形式。结果表明, 三足萘基取代脲类主体分子可以作为荧光化学传感器选择性地识别含氧酸根离子; 而三足萘基取代硫脲类主体分子也可以和含氧酸根离子选择性地结合并能引起主体分子吸收光谱发生变化。
- 三、合成了多足萘酚基取代的亚胺和多胺衍生物。对该类化合物在溶液中的光谱光物理行为, 以及受溶剂极性和 pH 值等因素的影响进行了研究。结果发现, 该类化合物在有机溶剂中的荧光光谱表现为一个单的发射峰, 为萘酚式的发光; 而在水溶液中且出既有酚式发光又有酚负离子发光的双重荧光峰, 而且二者是以平衡状态存在的; 当该类化合物作为配体分子与小牛胸腺 DNA 分子作用时, 实验观察到不仅存在 DNA 分子碱基对与配体分子间的光诱导电子转移, 而且还观察到从萘酚羟基向 DNA 分子的质子转移现象。上述工作为进一步研究配体与 DNA 分子相互作用, 作用后的能量转移和物种传递、以及反应在发光性质上的特征提供了重要的参考资料。

Study on Synthesis and Properties of New Fluorescent Chemosensors

Ph. D Candidate: Hongzhi Xie (Organic Chemistry)

Directed by: Professor Shikang Wu

Abstract

Molecular recognition, as the base of molecular transportation and enzyme catalysis, is the one of main branches in supramolecular chemistry. Fluorescent chemosensor and ionchromophore, based as the molecular recognition and spectral response, have been designed and synthesized to be used in biochemistry, clinical medicine, environmental science and the other area related to human health. In this thesis, the progress of molecular recognition base on cyclodextrins(CDs) and the study on the variation of photo-physical properties of fluorescent molecules which were complexed by CDs were reviewed in details. The recent study on the fluorophore-modified CD derivatives used as fluorescent chemosensors was also included in this section. On the other hand, the new fluorescent chemosensors and ionchromophores for detecting of anionic species is also one of important areas in the molecular recognition, the development and feature of artificial synthetic receptors for anions were also reviewed. The feasibility of developing chemosensors was discussed for anions by which induce the variation of optical spectra of host compounds. In present work, the following area has studied.

Section 1 Design, synthesis and properties of fluorescent chemosensor based on chalcone-modified cyclodextrin

1) A new fluorescent chemosensor, β -cyclodextrin derivative (DMAC-CD), which was modified by a N,N-dimethylamino-chalcone(DMAC) at one of the C₆ position of β -CD with a 1,2-diamino-5,8-dioxa-decane chain, was synthesized. The photo-physical behavior and the molecular recognition of this compound were investigated by fluorescence spectroscopy. The results show that, the chalcone moiety of this CD derivative was located in the less polar CD cavity in the aqueous solution and a "self-inclusion" complex was formed which gave a higher fluorescence emission. When the guest molecules such as 1-adamantanecarboxylic acid (1-ACA) was added to the solution, there exists an "in-out" movement of appended chalcone group from cyclodextrin cavity, leading to a decrease in fluorescence of DMAC-CD. As for the

long-chained guests such as cationic surfactants with different length of alkyl chain added, they can insert into the CD cavity as a spacer to form a ternary inclusion complex with the host molecule. Thus a new host-guest mechanism was developed.

2) A comparative study on the fluorescence behavior for the chemical modified β -cyclodextrin appended a mono-N,N- dimethylamino-chalcone group (DMAC-CD) and the non-modified β -CD mixed with free dimethylamino-chalcone (DMAC+CD) in alcohol/water mixed solvent have been carried out in this section.. The peak wavelength and maximum emission intensity obtained in fluorescence spectra indicated that the inclusion behaviors of above-mentioned systems were obviously different in mixed alcohol/water solvents. The solvent-induced multi-component complex formation and dissociation and the effect of polarity and size of alcohol used on the inclusion behavior were also studied carefully by the changing of composition of mixed alcohol/water solvents. Result indicated that the self-inclusion complex of DMAC-CD has a higher stability in above mixed solvents than that of the DMAC + β -CD system. The obtained results and the observed phenomena were discussed in details.

3) A series of chalcone derivatives with the different aza-oxaalkane linkers were synthesized. The interaction of these chalcone derivatives, DMAC-CD with transitional metal ions were studied by steady state and time-resolved fluorescence spectral techniques. The experimental results showed that the fluorescence of chalcone derivatives were quenched by transitional metal ions and the quenching is contributed to dynamic mechanism, and the quenching capability of metal ions is accorded to their oxidizing potentials seriously; Since the complexes of chalcone derivatives with Fe^{3+} can be formed, their fluorescence quenching is resulted from both of the steady and dynamic mechanism. As for the chalcone-modified cyclodextrin (DMAC-CD), the typical steady quenching was observed upon addition of transitional metal ions. This chalcone-modified cyclodextrin can be used as a fluorescent chemosensor to detect transitional metal ions, especially for Cu^{2+} .

Section 2 Study on fluorescent chemosensors and ionchromophores for selectively recognizing of anionic species

1) A kind of open chain compounds, which contain three, two or one naphthylurea groups, were prepared. It is found that the photo-physical behaviors of these compounds in DMF solution depend strongly on the molecular conformation of

them and the acidity of solution. In the same time, the intra-molecular photo-induced electron transfer (PET) process between naphthyl group and nitrogen atom of tertiary amine group at the tip of molecule was found and this process strongly depends on the acidity of solution. It means that this process can be reduced by protonation of nitrogen of the tertiary amine group in tripodal compound.

- 2) Based on synthesis of six naphthyl substituted urea and thiourea open-chained compounds, the interaction of these compounds as host molecules with several anionic guests in molecular level were studied via absorption, fluorescence and ^1H NMR spectra. The experiments show that the anionic guests such as H_2PO_4^- and HSO_4^- can form host-guest complexes with tri-podal urea or thiourea host molecule with a good selectivity and lead to the variation of photo-physical properties of these host molecules. The stability constants and stoichiometry of these host-guest complexes were determined. The binding manner and possible structures of the complexes were proposed. The results demonstrated that both two tri-podal naphthyl substituted urea or thiourea compounds can be used as a fluorescent chemosensor or ionchromophore to recognize the oxoanions with higher selectivity.
- 3) Naphthol substituted polyamine derivatives were synthesized and their photo-physical properties in solution influenced by solvent systems with different polarity, pH values were studied in details. The experiments showed that these kinds of compounds have only one fluorescence emission band in less polar organic solvents, attributed to the fluorescence of their neutral form. In the aqueous solution, however, these compounds have two emission bands corresponding to the fluorescence of the neutral and anionic forms. Upon addition of ctDNA molecules, the fluorescence of these compounds was all quenched and the obvious difference between two fluorescence emission bands was observed. The results indicated that not only a photo-induced electron transfer between DNA molecules and naphthol groups occurred, but also a proton transfer between them was existed. Based these properties of the substituted polyamines, the interaction of DNA with them, the energy transfer and substance transfer, and which induced the variation in photo-physical properties of the these ligands can be well studied.

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
文献综述.....	1
第一部分 环糊精及其衍生物的分子识别.....	2
一、结构和性质.....	2
二、包结配合物的形成和表征.....	3
三、环糊精的选择性化学修饰.....	5
四、环糊精内腔中的光物理性质.....	6
五、功能化的环糊精及其在分子识别研究中的应用.....	13
六、小结.....	23
第二部分 对阴离子物种的分子识别.....	24
一、阴离子识别的接受体部分.....	24
(一) 正电荷型接受体.....	25
(二) 电中性阴离子主体.....	31
二、在有机介质中的配位作用.....	35
三、有机磷酸盐和核苷酸盐的配合作用.....	36
四、小结.....	39
五、设计用于阴离子识别的荧光化学敏感其的可行性.....	39
参考文献.....	43
本工作的研究设想.....	54
第一章 二甲氨基查尔酮修饰 β -环糊精的合成及其分子识别作用....	56
引言.....	56
1.1 实验部分.....	56

1.1.1 仪器.....	56
1.1.2 试剂.....	56
1.1.3 目标化合物的合成.....	57
1.2.4 所用客体分子的结构.....	60
1.1.5. 荧光光谱测量.....	60
1.2 结果与讨论.....	60
1.2.1 查尔酮衍生物的溶致变色效应.....	60
1.2.2 主体化合物在水溶液中的“自包结”行为的研究.....	62
1.2.3 主体化合物对环状分子的识别作用.....	63
1.2.4 主体化合物对线状长链分子的识别作用.....	64
1.2.5 主体化合物 DMAC-CD 对客体分子的识别机制.....	68
小结.....	69
参考文献.....	69
第二章、化学修饰环糊精在不同醇/水混合溶剂中包结行为的研究.....	70
引言.....	70
2.1 实验部分.....	70
2.1.1 仪器与试剂.....	70
2.1.2 操作步骤.....	71
2. 2 结果与讨论.....	71
小结.....	79
参考文献.....	79
第二章 查尔酮修饰β-环糊精与过渡金属离子间相互作用.....	80
引言.....	80
3. 1 实验部分.....	81

3.1.1 合成和表征.....	82
3.1.2 稳态荧光光谱测量.....	82
3.1.3 时间分辨荧光技术测量荧光寿命.....	83
3.2 结果与讨论.....	83
3.2.1 稳态荧光光谱研究查尔酮衍生物与过渡金属离子的相互作用.....	83
3.3.2 稳态荧光光谱研究查尔酮修饰的 β -环糊精与过渡金属离子的相互作用	87
3.2.3 时间分辨荧光光谱测量结果.....	90
小结.....	93
参考文献.....	93
第四章、多足化合物的分子内光诱导电子转移及 pH 对其荧光的影响.....	94
引言.....	94
4.1 实验部分.....	94
4.1.1 仪器与试剂.....	94
4.1.2 合成与表征.....	94
4.1.3 荧光量子产率的测定.....	95
4.1.4 时间分辨荧光测量.....	95
4.2 结果与讨论.....	96
4.2.1 稳态荧光测量结果.....	96
4.2.2 时间荧光分辨测量结果.....	99
小结.....	101
参考文献.....	101
第五章、多足开链尿基化合物与阴离子的相互作用研究.....	102
引言.....	102
5.1 实验部分.....	102

5.1.1 主体化合物.....	102
5.1.2 实验方法.....	103
5.2 结果与讨论.....	104
5.2.1 阴离子客体诱导主体化合物吸收光谱和荧光光谱的变化.....	104
5.2.2 阴离子客体诱导主体化合物 ^1H NMR 谱的变化.....	107
5.2.3 主客体配合物的配位比、稳定常数、及配合方式.....	108
小结.....	111
参考文献.....	112
第六章、多足开链硫脲类化合物与阴离子的相互作用研究.....	113
引言.....	113
6.1 实验部分.....	113
6.1.1 仪器与试样的合成.....	113
6.1.2 实验方法.....	115
6.2 结果与讨论.....	115
6.2.1 阴离子客体诱导主体化合物吸收光谱变化.....	115
6.2.2 主客体相互结合的 ^1H NMR 谱研究.....	118
6.2.3 主客体配位物的化学计量比和稳定常数.....	118
6.2.4 主客体配合物合理的结构.....	119
小结.....	121
参考文献.....	123
第七章、取代 1-萘酚基多足胺衍生物与 ctDNA 的相互作用.....	124
引言.....	124
7.1 实验部分.....	124
7.1.1 试剂和处理.....	124

7.1.2 合成和表征.....	125
7.2 结果与讨论.....	127
7.2.1 溶剂效应.....	127
7.2.2 pH 效应.....	130
7.2.3 多足化合物与 DNA 的相互作用.....	132
小结.....	136
参考文献.....	136
发表和待发表的文章.....	137
致谢.....	139

文献综述

超分子是指两个或两个以上分子物种间通过特殊的非共价键相互作用形成的分子集合体。在过去的二十年中,超分子化学即分子层次以上的化学研究极大地推动了化学学科的发展。这是因为超分子化学的提出和其后的发展总是与生物有机化学和生物无机化学紧密相关。尽管超分子化学是在大环冠醚和主客体化学、生物膜分子有序组装的基础上发展起来的,但其后在蛋白质-蛋白质相互作用、金属- π 相互作用、蛋白质与配体间的分子识别、金属模板自组装以及与配体的相互作用等研究领域的巨大进展使超分子化学这一概念变得非常广泛。目前这一领域的研究主要集中在分子识别、分子催化和分子传递三个方面,而分子识别研究可以说是前提和基础,而且对于设计高选择性和高结合强度的人工受体分子具有重要的指导意义。

分子识别在近年来引起人们极大的兴趣,这主要是因为它在许多方面如生物化学、临床医学、环境科学与人类健康紧密联系的领域有关。分子识别过程可以通过设计某种能产生和传递特定信息的分子器件来加以检测,其中光信号因其易于传递和控制,已发展成为新的荧光化学敏感器(Fluorescent Chemosensor)。通过分子的发光现象来探测分子间的相互作用,其优点可以概括为以下几个方面:(1)具有很高的灵敏度;(2)便于实现分子结合的开-关功能;(3)可以利用光纤技术实现单细胞的实时检测。许多分子结构因素和分子所处的环境因素都可用以控制荧光发光效率和特征。因此,如 TICT 发光、激基缔合物和激基复合物发光、重原子效应、光诱导电子转移和电子能量转移等激发态分子的光物理性质已成功用于荧光敏感器的设计。

荧光化学敏感分子主体一般有几个部分组成:(1)外来物种的接受体部分(receptor),它负责识别和结合客体分子;(2)发色团(chromophore)部分,它负责发光信号的产生;(3)连接体部分也称隔离基团(spacer),它负责连接发色团和接受体的作用;(4)信号驱动部分,它在外来物种进入分子接受体时起到驱动发光信号变化的作用。通过在分子水平上通过化学和物理性质的调节,可以观察到荧光信号的变化。

荧光化学敏感器在识别阳离子物种和中性有机分子的研究中取得了很大的发展,但遗憾的是由于缺乏对简单阴离子物种响应的发光分子而使这一领域的发展受到很大的限制,在这一方面研究较多的是生物体内的氨基酸和核酸体系。为了获得高灵敏度和高选择性的荧光化学敏感主体分子,以及对不同种类和尺寸的中性有机分子,特别是对简单的阴离子进行识别。本工作设计和合成了以荧光发色团修饰环糊精和取代的中性开链型含氮化合物为主体的荧光化学敏感器。并对他们的光物理行为以及它们对中性分子和阴离子物种的识别能力进行详细的研究。

第一部分 环糊精及其衍生物的分子识别

简介

酶、基因、抗体以及离子转移生物体系都具有与其结构相匹配的底物选择性结合的能力。这种基于弱的非共价键结合, 并使其成为高度专一性的可以“锁定”(logic)客体分子的能力使分子受体在生物体系占有重要的位置。人工合成大环接受体已用于小分子物种的选择性结合, 并形成所谓的超分子主客体结构, 从而使化学向控制分子性质和反应取向的方向进一步发展[1]。最近十年中, 由于环糊精分子具有能够包结不同有机和无机底物进入其内腔的能力, 从而引起人们巨大的兴趣, 已成为超分子化学的一个重要分支[2-5]。另外环糊精体系内亲油外亲水的性质提供了一个研究分子间及分子内弱相互作用的重要模型, 从而克服了在生物大分子体系如蛋白和核酸中研究这一弱作用的困难[6-7]。环糊精包结有机分子的能力, 使其起到增溶和增稳作用, 因而被广泛地应用于药物、食品、化学、植物保护、化妆品以及烟草工业[8-9]。文献已对环糊精在各个领域的应用和发展进行了详细的评述。其中包括环糊精化学性质的一般综述[10a], 晶体结构研究[10b], 包结配合动力学研究[10c], 在溶液中配合物的稳定性研究[10d], 化学计量学研究[10e], 核磁共振法对其包结配合物的研究[10f], 环糊精及其衍生物对有机反应的催化作用[10g], 人工模拟酶[10h], 药物载体体系中的应用[10i]和环糊精的化学修饰[10j]等。

一、结构和性质

环糊精是淀粉经 *Bacillus macerans* 淀粉酶的作用下生物合成得到的环状葡萄糖聚糖。Villiers 于 1891 年首次发现了环糊精[11], 但直到 1903 年 Schardinger 才对它们的性质和分离进行了详细的报道[12-14]。最常见的环糊精是由 6-8 个 D(+)-吡喃糖单元, 通过 1, 4-糖苷键相连而成, 分别称为 α -, β -, γ -环糊精, 其结构如图 2 所示。晶体结构研究结果表明, 柱状环糊精内腔根据所含葡萄糖单

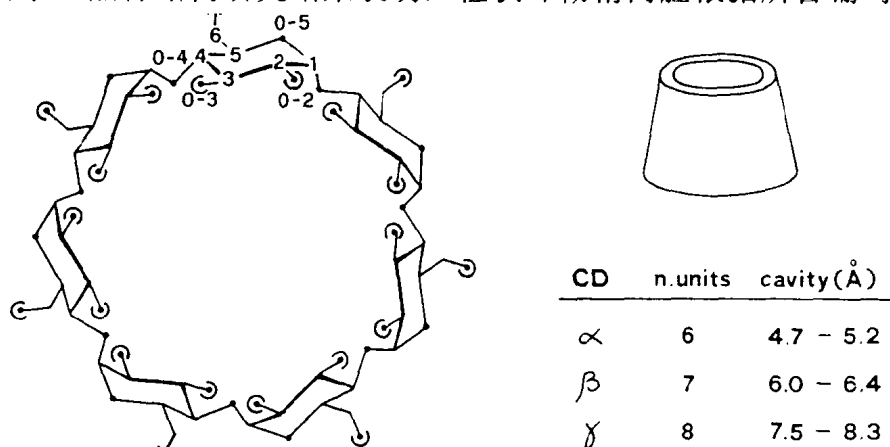


Figure 2. Structure of the CDs and schematic representation of the cavity shape.

元的不同,直径从 5 Å (α -) 到 8.5Å (γ -) 不等,而高度都近似为 8Å。由于葡萄糖单元椅式构象的结果,二级羟基(在葡萄糖的 C-2 和 C-3 上)位于环糊精的大口位置,而一级羟基位于另一端的小口处。由于环糊精的内腔是由 C-H 键和糖苷氧桥形成,而羟基伸出腔外,使得环糊精具有内腔亲油,外腔亲水的功能[15]。但环糊精的内腔中存在高能结晶水,其中 α -, β -, γ -型的分别含有 2, 6.5 和 12 个结晶水。结晶水的存在导致了 α -环糊精张力构象的坍塌,因而 α -, γ -环糊精在水中的溶解度较大,为 $10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$,而 β -环糊精的溶解度却小于 $2 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ [2-3]。

二、包结配合物的形成和表征

环糊精能够形成包结配合物的能力是 Pringsheim 于 1930 年首次发现的[16-18]。环糊精的水溶性及其内腔对底物的快速的、选择性和可逆性的结合能力以及对不同的有机反应的催化作用使其成为很好的模拟酶模型[19-22]。

在水溶液中 CD 包结配合物的形成是许多分子间的相互作用的综合结果[3, 15, 21-25]。它们包括:(1)疏水相互作用;(2)氢键结合作用;(3)范德华力相互作用;(4)从 CD 内腔释放高能水;(5)包结底物后减小 CD 环的张力能。然而不论形成那种作用力,几何因素对决定包结配合物的稳定性是至关重要的。客体分子太小时易于进出 CD 内腔而使结合作用减小,而当 CD 内腔太大时往往形成的是部分包结的配合物。另外,配合物的稳定性又决定于客体分子本身的疏水特征。当客体分子被环糊精包结后,其许多性质例如水溶性、化学反应性[2, 3, 25-28]、 $\text{P}K_a$ 值[29-30]以及扩散性 [3, 31]都会发生变化。许多方法可以用于测定环糊精与客体分子形成包结配合物的物理化学特征,其中研究较多的是其主客体配位能力和热力学性质。

测定环糊精的配位反应的平衡常数有许多方法,常用的有微量量热分析[32-34],电子吸收光谱[12, 35, 36-38],圆二色谱[39-42],荧光光谱(稳态荧光[31, 43-46]和时间分辨荧光光谱[47-50],核磁共振[22, 51]和电子自旋共振(ESR)波谱[52, 53, 15],气相[23, 54]和液相色谱[55, 56],毛细管电泳[57], pH 电位[35, 58]和离子选择电极[59],溶解度法[25, 26]和电导法[44, 60]等等。

在这些方法中,光谱法因其仪器和操作方便已被广泛地应用于测定环糊精与客体分子形成的主客体配合物平衡常数。利用不同温度下测得的主客体配合物的形成常数,经 Van't Hoff 方程处理后就可以定量计算出配位反应的自由能变化(ΔG)。这一数据不仅可以用稳态的方法测定,而且也可以用时间分辨荧光法来测定其反应的速率常数进而求得反应的平衡常数。然而文献报道的多是有关芳香族分子与环糊精的配位作用,而脂肪族分子由于缺少 UV-Vis 吸收,再加上环糊精本身在光谱上是惰性的,因而使吸收光谱的应用有一定的限制。

NMR 滴定法也可以用于测定环糊精与客体分子形成的包结配合物的热力学

性质。其所用的数学处理方法与光谱法相似。根据客体分子诱导环糊精质子化学位移的变化与加入客体的浓度之间的关系,可以测定主客体分子相互作用的结合常数。NMR 法的优点是不受包结的客体分子光谱性质的制约,而且可以利用各种 NMR 技术如二维 ^1H - ^1H 相关谱和 NOE 效应来研究环糊精与客体分子的手性识别以及形成配合物的结构。缺点是该法的灵敏度低,而且在测定时需要使用氘代溶剂。ESR 常用于测定环糊精与自由基型客体形成配合物的平衡常数。该法也是唯一可以研究环糊精与自由基型客体作用时的测试方法。

圆二色谱(CD)是研究手性识别研究中最好的方法。由于母体环糊精分子本身具有手性特征,当其与手性客体分子作用时就会诱导客体分子圆二色信号发生变化,这样就可以确定形成的包结物的结构和取向,而这一性质不可能在常规的 UV-Vis 法测量中观察到。

两种电位滴定技术,离子选择电极(ISE)和 pH 电位滴定法同样也应用与环糊精与带电荷性物种之间相互作用时物理化学性质。ISE 法的优点是可以直接测量得到溶液中未包结客体分子的浓度,而 pH 法测定后需要进行复杂的数学处理,才能获得主客体间相互作用的信息。

毛细管电泳法同样可以应用于研究环糊精对手性分子的识别作用。该法的测量原理是电解质溶液中加入环糊精后,包结的和未被包结的客体分子在电场中表现出不同的迁移速率,从而可以分离并定量测定形成包结配合物的浓度。

某些酯在缓冲溶液中的水解反应速率在加入环糊精后发生加快,加入环糊精和另一竞争性客体分子后,通过比较酯水解反应速率的变化,也可以测定环糊精与底物作用的热力学性质。例如 3-硝基乙酸酯水解反应在加入环糊精后明显加快,而再加入金刚烷酸根后,该水解反应又会减慢,根据金刚烷酸根对上述水解反应竞争性抑制作用,同样也可以测得环糊精与金刚烷酸的结合常数。

尽管环糊精包结配合物形成的热力学参数可以通过多种实验技术测定,但并不能给出形成配合物的立体结构和动力学性质。然而 ^1H NMR 技术可以用于测定环糊精配合物的几何构型和动力学特征[61]。如果形成包合物,处于空腔中的质子[H-3, H-5]将被屏蔽并使其 NMR 信号向高场位移。另一方面,如果结合发生在空腔的外围,H-1, H-2 以及 H-4 的质子也会受到强烈的影响。 ^{13}C NMR 化学位移以及客体分子对其的影响为 CD 配合物的形成提供了进一步的研究工具。其他 NMR 手段,例如 ^1H - ^1H ONE 效应相关谱能够提供 CD 包结分子在内腔中的准确位置。光谱法由于对位置相互作用的灵敏性以及时间分辨的可能性,这一技术证明对于研究主客体结构和动力学性质也是非常有用的[43]。同时,配合物的几何构型可以借助 X-射线衍射得以测定。然而,这一方法仅用于有限的几个例子,这是因为获得 CD 包结配合物的单晶有一定的困难。这样一来,圆二色谱(ICD)成为环糊精包结配合物结构研究时非常重要和有效的手段。其原理是,当分子被包结于环糊精内腔中时,在圆二色谱中会得到两个相反的

信号, 即当包结分子的偶极与环糊精内腔的轴线平行时, 得到一个正信号; 相反, 当垂直时, 表现在 CD 谱上表现为一个负信号[62]。然而在使用圆二色谱表征 CD 配合物构象时, 值得注意的是这种诱导 CD 正负信号的变化并不是必然的, 不同几何配合物的形成对圆二色谱信号的影响有一定的差异。而且当形成松散配合物时, 不同的构象平衡形式的存在是决定诱导圆二色谱变化的主要因素。我们可以通过分子力学计算, 以及电导的测定可以获得环糊精几何构型与圆二色谱关系的定量判据。

三、环糊精的选择性化学修饰

为了进一步使环糊精具有不同的功能, 利用环糊精上不同羟基的反应性质和位置上的差异, 可以对环糊精进行化学修饰, 从而使其转化为具有不同功能的衍生物[10]。如前面所述, 在环糊精分子结构中, 其葡萄糖单元在 2 位和 3 位上为二级羟基, 在 6 位上为一级羟基, 而整个分子由于相邻葡萄糖单元中 C2 和 C3 羟基间分子内氢键相互作用形成了内亲油外亲水的刚性环状结构。这一分子内羟基的相互作用使二级羟基自由转动的能力下降。因而在进行环糊精化学修饰时, 首先要考虑的两个因素是羟基的亲核性和环糊精与反应试剂形成配合物的能力。羟基在性质上是亲核性基团, 在反应的初始阶段, 它决定了反应的选择性和修饰的程度(单取代, 双取代和三取代)。环糊精分子中存在有三种羟基, 其中 6 位上的羟基碱性最强(通常亲核性也最强)。而 2 位上的羟基酸性最强, 3 位的羟基因为伸向环糊精腔内而不易被反应试剂靠近而较难被修饰[63]。所以在一般情况下, 一个亲核试剂通常要进攻 6 位上的羟基(图 3 的 I)。

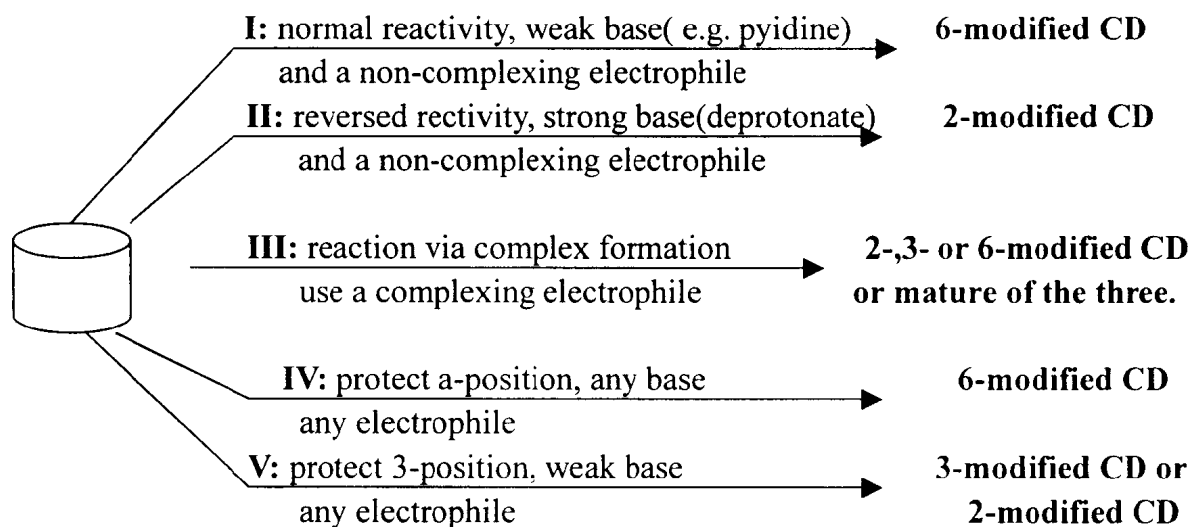


Figure 3 Overview of the methods for modification of cyclodextrins.