

葫[7]环联脲作为毛细管电泳分离介质的研究

魏 芳, 刘思敏, 徐 丽, 吴成泰, 冯钰琦

(武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要 :以葫[7]环联脲(CB[7])作为毛细管电泳添加剂,成功地分离了6种硝基苯类化合物。考察了pH值对电渗流的影响,初步评价了其基本的电泳性能,结果表明在所考察的pH值范围内(pH 2~6.5),葫[7]环联脲是质子化的,且吸附到毛细管内壁上,这使得毛细管内壁带上正电荷,电渗流反向;初步考察了葫[7]环联脲的浓度对分离的影响,证明了用葫[7]环联脲作为添加剂可完全分离对硝基甲苯、对硝基甲苯、对氯硝基苯、间二硝基苯、2,4-二硝基氯苯和硝基苯这6种物质,最佳的缓冲液为10 mmol/L Na₂HPO₄(用盐酸调节pH值为2.47)-甲醇(体积比为90:10,含5 mmol/L CB[7])。并初步探讨了其分离机理。

关键词 :葫[7]环联脲; 添加剂; 毛细管电泳; 硝基苯

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2004)05-0476-03

Study on Cucurbit[7]uril-Mediated Capillary Electrophoresis

WEI Fang, LIU Simin, XU Li, WU Chengtai, FENG Yuqi

(College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract : The use of a novel macrocyclic molecule, cucurbit[7]uril (CB[7]), as an additive in capillary electrophoresis (CE) for the separation of several neutral nitrobenzenes is reported. Disodium hydrogen phosphate-hydrochloric acid was used as the buffer solvent with the UV detection at 254 nm. During the running process, CB[7] bore positive charge under the studied pH range (pH 2 - 6.5) and was adsorbed onto the inner wall of fused silica capillary, leading to a reversal of the electroosmotic flow (EOF). The effects of buffer pH and CB[7] concentration on the EOF behavior were investigated. The influences of the CB[7] concentration on electrophoretic behaviors of nitrobenzenes were also studied, and it was found that the selectivity increased with CB[7] concentration. The results showed that CB[7] provided good selectivity for nitrobenzenes and successful separation was obtained under optimum condition (10 mmol/L Na₂HPO₄ (pH 2.47, adjusted by HCl)-methanol (90:10, v/v), containing 5 mmol/L CB[7]). Possible explanation is also proposed.

Key words : cucurbit[7]uril; additive; capillary electrophoresis; nitrobenzenes

超分子化学或主客体化学是当今化学研究的一个热门领域。在天然或人工合成主体中,冠醚、环糊精及杯芳烃作为分子受体的超分子体系及其分子识别与组装方面的研究和应用已有大量的报道。葫环联脲(cucurbit[*n*]uril,简称CB[*n*])作为新近快速发展的主体化合物,正受到化学家们的广泛关注,并逐渐成为超分子化学研究领域中的一个热点。

葫[*n*]环联脲是一类由*n*个昔脲单元和2*n*个亚甲基桥联起来的葫状大环化合物。不同的聚合度可形成端口大小不同的葫[*n*]环联脲(*n* = 5 ~ 10)。葫[*n*]环联脲的形状类似于中国传统打击乐器“鼓”,具有两端开口的空腔,其两端口尺寸相同,空

腔直径大于端口直径。与环糊精相同,葫[*n*]环联脲的空腔也是疏水的,可以包结有机分子;葫[*n*]环联脲的空腔由羰基所环绕,而羰基又形成了阳离子键合位点,所以可以通过离子-偶极相互作用和与脲羰基的氢键作用来键合金属离子或有机分子的带电部分^[1]。与其他大环化合物相比,这类化合物具有更加刚性的结构,不易变形,在强酸性和强碱性介质中都具有良好的稳定性,且没有明显的紫外吸收。鉴于葫[*n*]环联脲的上述特点,本文以葫[7]环联脲(CB[7])^[2-7]为代表性化合物,探讨葫[7]环联脲作为毛细管电泳添加剂分离硝基苯类化合物的可能性。

收稿日期 2004-02-19

作者简介:魏芳,女,硕士。

通讯联系人:冯钰琦,教授,博士生导师,E-mail: yqfeng@public.wh.hb.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 20275027和No. 20172040)。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

CB[7]是脲脲与过量甲醛在酸性条件下缩合而成的环状七聚体,其合成和纯化参照了文献[8]的方法。产物结构和纯度经核磁共振氢谱($^1\text{H NMR}$)和核磁共振碳谱($^{13}\text{C NMR}$)、元素分析以及电喷雾电离质谱(ESI-MS)证实。其结构如图1所示。

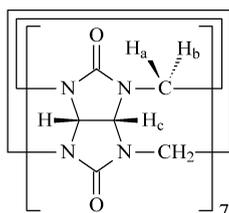


图1 蒟[7]环联脲(CB[7])的结构

Fig. 1 The structure of cucurbit[7]uril (CB[7])

磷酸氢二钠、氢氧化钠、盐酸、对硝基乙苯(*p*-nitroethylbenzene)、对硝基甲苯(*p*-nitrotoluene)、对氯硝基苯(*p*-nitrochlorobenzene)、间二硝基苯(*m*-dinitrobenzene)、2,4-二硝基氯苯(2,4-dinitrochlorobenzene)、硝基苯(nitrobenzene)、硫脲和甲醇均为分析纯。所有实验用水均为二次蒸馏水。

NT-宾达1229HPCE ANALYZER电泳仪购自北京新技术研究所,TL9900色谱工作站购自北京泰立化技术有限公司。熔融石英毛细管(50 μm i. d. \times 46 cm,有效长度31 cm)购自河北永年光纤厂。

1.2 电泳方法

新毛细管依次采用1 mol/L NaOH冲洗2 h,二次蒸馏水冲洗30 min,1 mol/L HCl冲洗2 h,二次蒸馏水冲洗至中性,然后用缓冲溶液冲洗至平衡。两次分析之间用分离缓冲液冲洗毛细管2 min。采用高度差(10 cm)进样;柱温为25 $^{\circ}\text{C}$;分离电压为-25 kV;检测波长为254 nm。

2 结果与讨论

2.1 pH值对电渗流的影响

由于CB[7]在碱性溶液中的溶解度较小,因此我们考察了缓冲溶液的pH值在2~6.5的电渗流(EOF)。电渗流随缓冲溶液pH值的变化趋势如图2所示,在所考察的pH值范围内,呈现反向电渗流的特征,并且随着pH值的降低电渗流逐渐增大,当pH值降低到一定值时,电渗流大小基本恒定。这说明在所考察的pH值范围内,CB[7]是质子化的,并吸附到毛细管内壁使之带上正电荷,从而使电渗流反向。当pH值由6.5减小到4.5时,CB[7]的质子化程度增加,因此表现为反向电渗流增加。当pH

值在4.5到2范围内变化的时候,CB[7]的质子化程度基本恒定,不再随pH值的降低而增加,故而表现为接近恒定的反向电渗流。

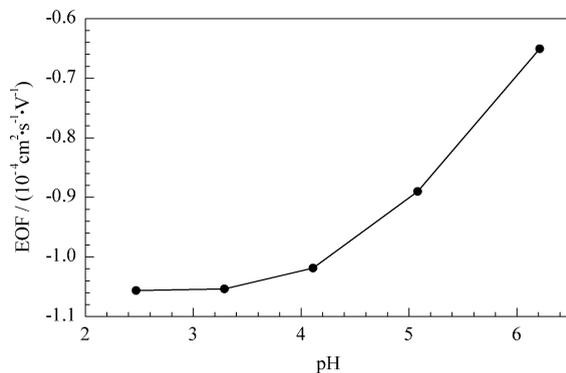


图2 缓冲液pH值对电渗流的影响

Fig. 2 The effect of buffer pH on the electroosmotic flow (EOF)

Buffer: 10 mmol/L Na_2HPO_4 (pH 2.47, adjusted by HCl) - methanol (80:20, v/v), containing 3.5 mmol/L CB[7]. The EOF marker: thiourea.

2.2 CB[7]的浓度对电渗流的影响

图3描述的是在缓冲溶液中加入不同浓度CB[7]对电渗流的影响。结果表明,反向电渗流随着CB[7]浓度的增加而逐渐增大。这是因为CB[7]浓度的增加使得毛细管壁的正电荷增多,因此反向电渗流增加。

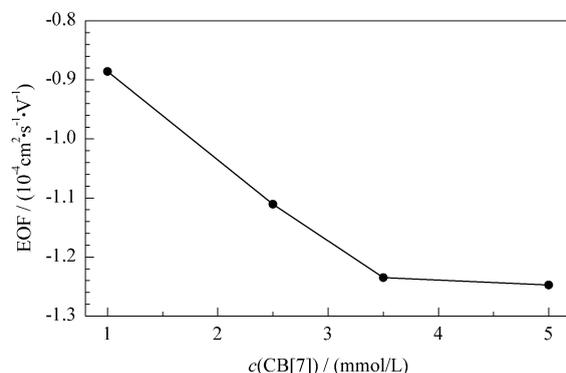


图3 CB[7]的浓度对电渗流的影响

Fig. 3 The effect of CB[7] concentration on the EOF

Buffer: 10 mmol/L Na_2HPO_4 (pH 2.47, adjusted by HCl) - methanol (90:10, v/v). The EOF marker: thiourea.

2.3 CB[7]的浓度对溶质有效淌度的影响

考虑到CB[7]的溶解度较小,我们考察的CB[7]的浓度范围为1~5 mmol/L。图4描述的是在缓冲液中加入不同浓度的CB[7]对6种化合物有效淌度 μ_{ef} 的影响。由于CB[7]的质子化使其移动方向与电渗流相反,而电中性的溶质又能与其形成稳定性不同的包结化合物,因此溶质的 μ_{ef} 也与电渗流方向相反。可以看出,随着CB[7]浓度的增加,一方面每种化合物的 μ_{ef} 都呈缓慢增加的趋势,

另一方面,相邻两物质之间的 μ_{ef} 相差增大,当 CB[7] 的浓度大于 3.5 mmol/L 时,可以实现对 6 种物质的分离。这是因为 CB[7] 浓度的增加使得其与被分离物质之间的作用力增强,因此溶质的保留增强,在毛细管中停留的时间增长,所以能得到更好的分离。

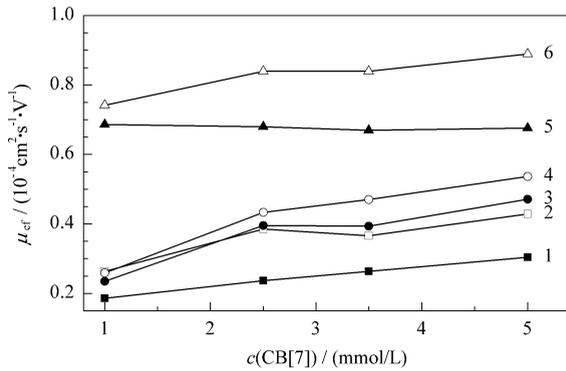


图 4 CB[7] 浓度对溶质 μ_{ef} 的影响

Fig. 4 Effect of CB[7] concentration on the μ_{ef} of nitrobenzenes

Buffer :10 mmol/L Na_2HPO_4 (pH 2.47, adjusted by HCl)-methanol (90:10, v/v).

1. *p*-nitroethylbenzene ; 2. *p*-nitrotoluene ; 3. *p*-nitrochlorobenzene ; 4. *m*-dinitrobenzene ; 5. 2,4-dinitrochlorobenzene ; 6. nitrobenzene.

2.4 硝基苯类化合物的分离

毛细管区带电泳只能分离离子型化合物,而不能分离电中性化合物。但当以 CB[7] 为添加剂时,由于其具有和 β -环糊精类似的疏水性空腔,这种结构使得疏水性及分子大小不同的电中性化合物能与它形成稳定性不同的包结化合物,同时由于 CB[7] 在中性或酸性的条件下易质子化,因此又与 β -环糊精^[9-11] 不同,它既不需要衍生也不需要加入胶束就可以用于分离中性化合物。

对硝基乙苯、对硝基甲苯、对氯硝基苯、间二硝基苯、2,4-二硝基氯苯和硝基苯都是电中性化合物,当以 CB[7] 为添加剂时,6 种化合物与 CB[7] 形成稳定性不同的包结化合物,从而使溶质以不同速度迁移,同时由于电渗流反向且较大,足够使得溶质向正极移动,因此可以实现 6 种物质的分离。

我们在 10 mmol/L Na_2HPO_4 (pH 2.47)-甲醇 (90:10, v/v, 含 5 mmol/L CB[7]) 的缓冲液中实现了这 6 种电中性化合物的基线分离(见图 5)。包结作用大小主要受位阻效应和溶质自身疏水性的影响,对硝基乙苯的分子比对硝基甲苯长,因此它和 CB[7] 的包结作用较弱,故最先出峰;对硝基甲苯的位阻大于对氯硝基苯,因此前者与 CB[7] 的包结作用弱于后者,故先于后者出峰;对氯硝基苯和间二硝基苯相比较,可能后者的分子尺寸更适合 CB[7] 的

空腔,因此包结作用较强,后出峰;虽然 2,4-二硝基氯苯的位阻大于间二硝基苯,但其自身的疏水性也大于后者,两种因素中可能第二种因素的影响较大,因此 2,4-二硝基氯苯后出峰;硝基苯的分子最小,可完全进入到 CB[7] 的疏水性空腔中,存在很强的疏水作用,故最后出峰。综上所述,出峰顺序为:对硝基乙苯、对硝基甲苯、对氯硝基苯、间二硝基苯、2,4-二硝基氯苯、硝基苯。

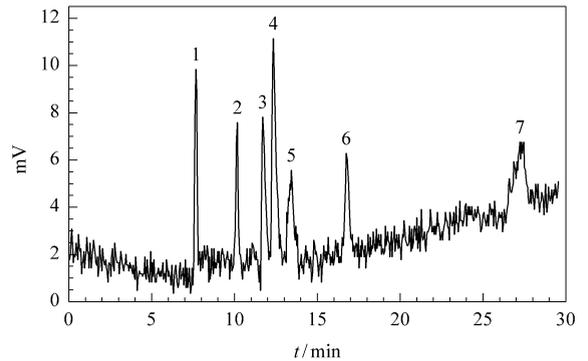


图 5 6 种硝基苯类化合物的分离图

Fig. 5 Separation of nitrobenzenes

Buffer :10 mmol/L Na_2HPO_4 (pH 2.47)-methanol (90:10, v/v), containing 5 mmol/L CB[7]. Voltage : -25 kV.

Peaks : 1. thiourea ; 2. *p*-nitroethylbenzene ; 3. *p*-nitrotoluene ; 4. *p*-nitrochlorobenzene ; 5. *m*-dinitrobenzene ; 6. 2,4-dinitrochlorobenzene ; 7. nitrobenzene.

3 结论

本文以葫芦[7]环联脲作为毛细管电泳添加剂成功地分离了 6 种硝基苯类电中性化合物。实验结果证明了葫芦环联脲作为超分子主体分子在毛细管电泳中应用的可能性。进一步的研究工作正在进行中。

参考文献:

- [1] Han Baohang, Liu Yu. Organic Chemistry (韩宝航, 刘育. 有机化学), 2003, 23(2): 139
- [2] Choi S, Park S H, Ziganshina A Y, Ko Y H, Lee J W, Kim K. Chem Commun, 2003, 17: 2176
- [3] Wagner B D, Stojanovic N, Day A I, Blanch J R. J Phys Chem B, 2003, 107: 10741
- [4] Ong W, Gomez-Kaifer M, Kaifer A E. Org Lett, 2002, 4(10): 1791
- [5] Blanch R J, Sleeman A J, White T J, Arnold A P, Day A I. Nano Lett, 2002, 2(2): 147
- [6] Kim H-J, Jeon W S, Ko Y H, Kim K. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(8): 5007
- [7] Ong W, Kaifer A E. Organometallics, 2003, 22(21): 4181
- [8] Day A, Arnold A P, Blanch R J, Snushall B. J Org Chem, 2001, 66: 8094
- [9] Lucy A C, Brown R, Yeung K-C K. J Chromatogr A, 1996, 745: 9
- [10] Smith N W. J Chromatogr A, 1993, 652: 259
- [11] Snopek J, Soini H, Novotny M, Keulemansova S E, Jelinek I. J Chromatogr, 1991, 559: 215