


γ -环糊精与溴甲酚绿的包合作用

刘虹¹, 顾正彪^{1,2}, 洪雁¹, 李兆丰^{1,2}

(1. 江南大学食品学院, 2. 食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122)

摘要 采用紫外-可见分光光度法和等摩尔连续变化法研究了 γ -环糊精与溴甲酚绿的包合作用, 确定了包合物形成的化学计量比为 1:2; 采用热力学方法分析了温度与包合常数之间的关系, 计算了包合过程的焓变、熵变及自由能变化分别为 -39.988 kJ/mol , $86.400 \text{ J/(K} \cdot \text{mol)}$ 和 -14.245 kJ/mol , 这表明疏水作用力为主要驱动力; 采用核磁共振、分子模拟和红外光谱法对包合物进行了研究, 确定了包合物的形成, 分析认为这

可能是  基团进入 γ -环糊精腔内导致增色效应.

关键词 γ -环糊精; 溴甲酚绿; 包合物

中图分类号 O629.12; O641.3

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2008)09-1773-04

环糊精(CD)是一类腔内疏水、腔外亲水的环状聚合物, 有 α -、 β -和 γ -3 种形式, 分别由 6, 7, 8 个葡萄糖残基通过 α -1,4-糖苷键连接而成. 3 种 CD 的比例高度相当, 葡萄糖单位的数量决定其洞穴的内径和体积. 它的特殊结构可以使其通过范德华力、疏水作用力以及主客体分子之间的空间匹配效应, 与一些电荷、极性、结构、性质相匹配的客体分子或基团形成超分子包合物, 改变这些物质的物理和化学性能, 进而能被大量地应用于医药、食品、日用消费品及化工等领域. 当前, CD 的分子识别机理越来越受到化学工作者的广泛关注, 分光光度法^[1]、元素分析法^[2]、电导法^[3]、NMR 光谱^[4]、质谱^[5]和荧光法^[6]是研究 CD 和客体分子包合机理的常用方法. 从最近几年的研究和应用来看, 以 β -CD 的应用开发最为广泛^[7,8]. 但是, 由于 β -CD 的水溶性差且空腔较小, 导致应用范围受到限制, 应用效果也受到影响. α -CD 虽有一定的溶解度, 但其空腔较小, 因此其应用范围也有限. γ -CD 有较高的溶解度和较大的空腔, 能包含较大的分子, 且 γ -CD 的毒性最小^[9,10], 刺激性也很小, 应用前景看好.

溴甲酚绿(BCG)作为一种重要的染色剂, 在分析领域有着广泛的应用. 20 世纪 80 年代, Kato 等^[11]曾利用 CD 包含 BCG 使其发生增色的原理, 建立了测定 γ -CD 的分光光度法, 但 γ -CD 与 BCG 的相互作用方式及包合机理未曾见报道, 其相互作用后发生的增色效应也一直没有得到很好的解释. 因此, 探讨 γ -CD 与 BCG 之间的作用方式, 研究它们之间的作用力和包合机理, 对于阐明 γ -CD 与 BCG 之间相互作用的化学本质, 进一步完善 γ -CD 的分析测定方法以及扩大其应用范围都具有重要的意义. 本文采用 UV-Vis 光谱法和等摩尔连续变化法研究了 γ -CD 与溴甲酚绿的包合作用, 计算了包含过程中的焓变、熵变及自由能变化, 确定了包合物的形成.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Unico UV-2000 型紫外-可见分光光度计; 上海一恒 MP-501A 型超级恒温槽; Bruker AV-500 型核磁共振仪; Boman FALA2000104 FT-IR 光谱仪. γ -CD(Sigma 公司); 0.2 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH=4.2); 5 mmol/L BCG 溶液; 1 mol/L 盐酸; 实验所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水.

1.2 实验过程

1.2.1 紫外光谱法 准确移取 4 mL 柠檬酸缓冲液、0.1 mL 盐酸、0.2 mL BCG 溶液和适量的 γ -CD 于

收稿日期: 2008-01-10.

基金项目: 国家“八六三”计划(批准号: 2006AA10Z335)资助.

联系人简介: 顾正彪, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事食品资源的开发与利用研究. E-mail: foodstarch@yahoo.cn

试管中,使 γ -CD与BCG的摩尔比发生变化,混合均匀,静置20 min后,在一定温度下测定各溶液的紫外吸收光谱.

1.2.2 核磁共振法 将适量的 γ -CD溶于 D_2O 溶剂中,待完全溶解后,加入适量的客体分子BCG,使BCG与 γ -CD的摩尔比为2:1,加热,超声2 h,以DSS作为内标测定.

1.2.3 红外光谱法 将适量的BCG与 γ -CD以摩尔比1:5置于研钵中仔细研磨几分钟,使其成为均匀粉末混合物,然后滴加数滴无水乙醇,使其润湿,再置于微波炉中加热3~4 min,并不时地研磨,通过薄层板跟踪反应完成.再用少量的乙醇先后洗3次,以除去残留的主客体单体.置于真空干燥箱中,于50 $^{\circ}C$ 干燥3 h备用.采用KBr将 γ -CD、BCG以及包合物压片,分别测定红外光谱.

2 结果与讨论

2.1 紫外可见分光光度法研究包合物的形成

在室温下分别测定不同摩尔比的BCG与 γ -CD混合溶液的紫外吸收光谱,结果如图1所示.可以看到,随着 γ -CD浓度的增加,吸收峰强度相应增大,出现了增色效应,尤其在 $\lambda_{max}=640$ nm处,增强效果更为明显.出现这一现象可能与BCG的发色抑制基团进入 γ -CD腔内,导致 γ -CD空腔内的高电子密度诱导客体分子的电子发生移动有关,这表明 γ -CD(H)与BCG(G)之间发生了相互作用.

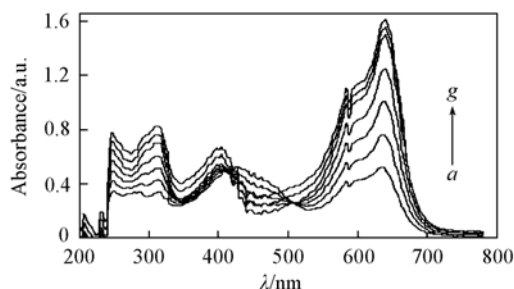


Fig. 1 UV-Vis absorption spectra of the BCG at different γ -CD concentrations

[BCG] = 5 mmol/L, pH = 4.1, 25 $^{\circ}C$, a \rightarrow g. $n(\text{BCG}):n(\gamma\text{-CD}) = 1:0, 1:1, 1:2, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20$.

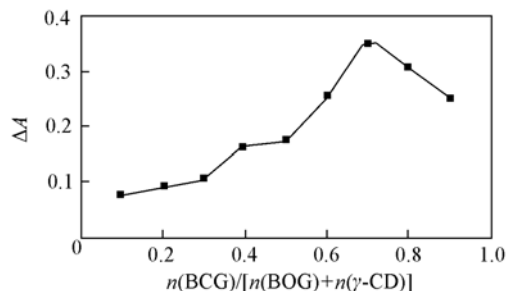


Fig. 2 Continuous absorbance variation plot of γ -CD and BCG mixtures

Room temperature (25 $^{\circ}C$); $\lambda = 640$ nm; $c(\gamma\text{-CD}) + c(\text{BCG}) = 1.2 \times 10^{-4}$ mol/L.

2.2 等摩尔连续变化法测定包合物的组成

在室温, $\lambda = 640$ nm 和 $c(\gamma\text{-CD}) + c(\text{BCG}) = 1.2 \times 10^{-4}$ mol/L 的条件下,以加入 γ -CD前后吸光度的变化值 ΔA 对BCG的摩尔分数作变化图,得到 γ -CD-BCG包合物的化学计量比.从图2中可看出, ΔA 的最大值对应的摩尔比为0.7,证明了 γ -CD与BCG形成了计量比为1:2的包合物.

2.3 热力学法研究包合作用

按照1.2.1节中的方法,研究不同温度下 γ -CD和BCG之间的包合过程,按文献[12]的方法计算得到不同温度下该包合物的包合常数 K_f (表1).由表1可见,随着温度的升高,包合体系的包合常数逐渐减小.说明包合物可能趋于离解,客体分子又从CD空腔内重新进入水相,包合物的稳定性降低.

Table 1 Formation constants (K_f) and Gibbs free energy change (ΔG) of the inclusion complexes of γ -CD-BCG at various temperatures

T/K	$K_f/(\text{mol}^{-2} \cdot \text{L}^2)$	$\ln K_f$	$\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	T/K	$K_f/(\text{mol}^{-2} \cdot \text{L}^2)$	$\ln K_f$	$\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
273	1357.50	7.213	-16.36	298	315.02	5.753	-14.24
289	529.61	6.272	-15.06	308	182.80	5.208	-13.33

由不同温度下的包合常数 K_f 计算各温度下的吉布斯自由能变化 $\Delta G = -RT \ln K_f$.依据公式: $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, $\Delta G/T = \Delta H/T - \Delta S$,将 $\Delta G/T$ 对 $1/T$ 作图,求得一次线性回归方程 $y = -39.988x + 0.0864$,回归方程的斜率为 ΔH ,截距为 ΔS (见表2).

由表2可以看出,包合反应的 ΔH 为负值,说明包合过程是一个放热过程; ΔS 为正值,说明包合过程作用是受熵控制,疏水作用力为主要驱动力^[13]; ΔG 为负值,表明包合反应过程是一个自发过程.

Table 2 Thermodynamic parameters relevant to the inclusion of BCG by γ -CD

Reaction system	$\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}) (25^\circ\text{C})$	$\Delta H/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$	r
γ -CD-BCG	-14.245	-39.988	86.400	0.996

2.4 核磁共振研究

按照 1.2.2 节的实验方法测定 γ -CD 在包合前后的 ^1H NMR 谱图. 当 γ -CD 包含 BCG 后, 各氢原子的化学位移都发生了不同程度的变化(表 3). 由于客体分子对环糊精内侧氢原子的屏蔽作用, 使得 H3, H5, H6 氢原子的化学位移明显向高场移动; 相比之下, H1, H2, H4 外部氢原子的变化则不显著. 客体分子 BCG 既可从 H3 处的大口端插入, 也可从 H5 和 H6 处的小口端插入, 两者存在快速平衡.

Table 3 Chemical shift δ and $\Delta\delta$ of protons in γ -CD under the existence of BCG

	H1	H2	H3	H4	H5	H6
$\delta_{\gamma\text{-CD}}$	5.157	3.705	3.980	3.633	3.894	3.912
$\delta_{\gamma\text{-CD-BCG}}$	5.140	3.683	3.925	3.620	3.839	3.875
$\Delta\delta^*$	-0.017	-0.022	-0.055	-0.013	-0.055	-0.037

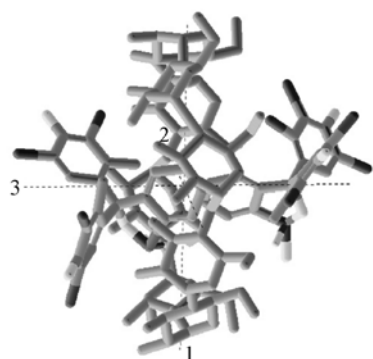
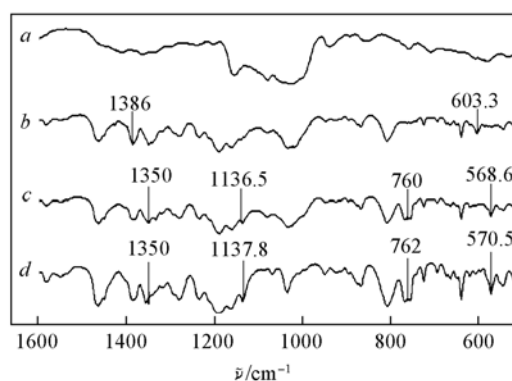
$$* \Delta\delta = \delta_{\gamma\text{-CD-BCG}} - \delta_{\gamma\text{-CD}}$$

客体分子 BCG 被包合前后苯环上氢原子的化学位移发生了很大的变化, 分别为 0.179, 0.164, 0.124, 0.109, 其余氢原子变化较小. 此结果表明 $-\text{C}(\text{O})\text{SO}_2$ 可能进入了 γ -CD 的空腔, 而间溴甲酚基团则在腔外.

2.5 分子模拟

为模拟 γ -CD 与 BCG 的作用方式, 采用 Hyperchem 分子模拟软件(Release 7.5 professional, Hypercube Inc, Waterloo, Canada), 对 γ -CD 和 BCG 的相互作用进行了分子力学模拟, 利用 AMBER 分子力场对体系进行优化^[14](收敛度: $0.1 \text{ kJ/mol} \cdot \text{nm}$). 图 3 为 γ -CD 与 BCG 包合作用的分子模拟示意图.

模拟过程中发现: (1) 主体 γ -CD 和客体 BCG 能自动发生包合作用, BCG 中的基团($-\text{C}(\text{O})\text{SO}_2$)能自发进入 γ -CD 的腔内. 结合紫外-可见分光光度法研究结果可以认为, 该基团可能为发色抑制基团, 它的包埋使得 BCG 吸收峰增强而出现增色效应; (2) BCG 中的其它基团靠近 γ -CD 分子时, 与 γ -CD 分子产生很强的排斥作用, 使得 γ -CD 分子的筒状结构发生明显的弯曲变形, 不仅自身很难进入分子内腔, 而且由于空间位阻效应, 阻止了其它分子或基团在同侧进入内腔; (3) 基团从 γ -CD 的大口端和小口端进入所得体系的最终总能量相当; (4) BCG 分子分别从 γ -CD 分子的两端竞争性地进入 γ -CD 空腔内, 一分子的 γ -CD 可自动包合两分子的 BCG, 这与等摩尔连续变化法的分析结果一致.

**Fig. 3** Schematic diagram of molecular modeling of inclusion mode between γ -CD and BCG**Fig. 4** FTIR spectra in the region between 800 and 1600 cm^{-1}

a. Pure γ -CD; b. (γ -CD)-BCG inclusion;
c. mechanically mixed; d. pure BCG.

2.6 红外光谱研究

结合分子模拟的结果, 重点分析 $-\text{C}(\text{O})\text{SO}_2$ 基团在包合前后的红外谱图的变化. 结合该基团特征

吸收峰的位置范围, 确定 BCG 谱图(图 4 谱线 *d*) 中关键的吸收峰: $-\text{SO}_2-$ 基的剪式振动位于 570.8 cm^{-1} , 对称伸缩振动位于 1137.8 cm^{-1} , 不对称伸缩振动位于 1350 cm^{-1} ; 苯环的邻位双取代 C—H 面外振动位于 762 cm^{-1} . 吸收谱带在机械混合物的谱图(图 4 谱线 *c*) 中基本上都明显存在, 只是叠加了 γ -CD 的某些吸收峰. 但在包合物谱图(图 4 谱线 *b*) 中, 这些峰(762 cm^{-1}) 基本消失了或产生了很大的位移(1380 cm^{-1}), 这是由于 BCG 和 γ -CD 产生了相互作用, BCG 部分基团进入了 γ -CD 的空腔, 微环境的改变使其对应的峰形变宽, 峰强度减弱. 与分子模拟结果完全一致, 这充分证明了包合物的形成.

参 考 文 献

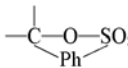
- [1] Xie H., Wang H. Y., Mal Y., *et al.*. Spectro. Chem., Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy[J], 2005, **62**(1—3): 197—202
- [2] Ishida T., Omata J., Nogami T.. Polyhedron[J], 2003, **22**(14—17): 2133—2138
- [3] DONG She-Ying(董社英), HUANG Yan-Lin(黄廷林), ZHENG Jian-Bin(郑建斌). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2005, **26**(11): 2023—2026
- [4] Ali S. M., Asmat F., Maheshwart A.. Farmaco[J], 2004, **59**(10): 835—838
- [5] SUN Wei-Xing(孙维星), LIU Zhi-Qiang(刘志强), SONG Feng-Rui(宋凤瑞). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 1998, **19**(5): 708—710
- [6] ZHANG Qiang(张强), LIU Yu(刘育). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(3): 458—461
- [7] KANG Shu(康澍), CHEN Lao(陈澍), SHI Ju(史琚). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2007, **28**(3): 458—461
- [8] YONG Guo-Ping(雍国平), LI Guang-Shui(李光水), ZHENG Fei(郑飞). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2000, **21**(7): 1124—1126
- [9] JIN Zheng-Yu(金征宇). Carbohydrate Chemistry(碳水化合物化学)[M], Beijing: Chemical Industry Press, 2008
- [10] Food Standards in Australia and New Zealand. Final Assessment Report, Application A438[S], 2003
- [11] Kato T., Horikoshi K.. Analytical Chemistry Acta[J], 1984, **56**: 1738—1741
- [12] HE Hua(何华), TANG Yao(汤瑶), SUN Cheng(孙成). Acta Chimica Sinica(化学学报)[J], 2006, **64**(2): 175—181
- [13] ZHANG Jing(张境), LIU Wan-Yi(刘万毅), ZHANG Xia(张霞). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)[J], 2006, **26**(3): 517—521
- [14] YIN Kai-Liang(殷开梁), XU Duan-Jun(徐端钧), CHEN Zheng-Long(陈正隆). Chinese Journal of Inorganic Chemistry(无机化学学报)[J], 2003, **19**(5): 480—484

Complexation of γ -Cyclodextrin with Bromocresol Green

LIU Hong¹, GU Zheng-Biao^{1,2*}, HONG Yan¹, LI Zhao-Feng^{1,2}

(1. School of Food Science and Technology,

2. The State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract UV-Vis and continuous variation plot method were used to study the complexation of γ -cyclodextrin with bromocresol green, and the stoichiometric ratio of the complexation was to be 1:2. Thermodynamic analysis results show an inverse relationship between temperature and complexation constant, and the change of enthalpy, entropy and free energy of the complexation were -39.988 kJ/mol , $86.400 \text{ J/(K} \cdot \text{mol)}$ and -14.245 kJ/mol , respectively, which indicating that hydrophobic effect was the main force to form the complexes. γ -Cyclodextrin and bromocresol green complexes were examined by nuclear magnetic resonance, infrared spectrum and molecular modeling analysis, and  was may be the group included in γ -cyclodextrin.

Keywords γ -Cyclodextrin; Bromocresol green; Complexation

(Ed.: H, J, Z)