

固体核磁法研究苯酚与聚 4-乙烯基吡啶的相互作用

张 静^{1,2}, 陈英超¹, 张赛晖¹, 孙平川¹, 袁 直¹

(1. 功能高分子材料暨教育部重点实验室, 南开大学化学学院高分子研究所, 天津 300071;
2. 上海药明康德新药开发有限公司分析部, 上海 200131)

摘要 采用高速魔角旋转(MAS)偶极滤波结合氘代稀释固体核磁技术, 研究了极性吸附分离材料聚乙烯吡啶与氘代苯酚之间的相互作用. 固体核磁结果表明, 聚乙烯吡啶与苯酚之间存在强的氢键作用, 与液体氢谱结果一致. 由 MAS 中水峰强度在吸附前后的变化揭示了苯酚部分置换了聚乙烯吡啶中的水, 且苯酚和聚乙烯吡啶氢键作用位点在靠近 N 的一端. 此种方法对于原位研究吸附剂的吸附机理以及新型吸附分离材料的设计具有重要的指导意义.

关键词 氢键; 偶极滤波魔角旋转 NMR; 氘稀释; 小分子探针

中图分类号 O631 **文献标识码** A **文章编号** 0251-0790(2009)04-0818-03

中药有效成分的提取和分离是实现中药现代化的一个重要前提. 吸附分离法由于方法简单、环境友好, 在有效成分提取中具有重要的应用价值. 但由于很多中药有效成分的分子结构复杂, 且交联吸附剂不溶于任何溶剂, 配体含量少, 对中药有效成分吸附量小, 许多表征手段难以用于中草药的吸附分离机理研究, 因此一直缺乏分子水平上的原位考察方法, 导致吸附剂的设计缺乏理论指导. 固体核磁(SSNMR), 尤其是魔角旋转(MAS)、偶极滤波(DF)^[1,2]及多脉冲结合旋转高分辨(CRAMPS)^[3]等技术的发展使得在分子水平上研究吸附剂的吸附机理成为可能. 基于偶极-偶极相互作用的固体核磁技术能够反映 0.5 ~ 1.0 nm 距离以内的相互作用, 已成为研究固体分子运动和相互作用的重要工具^[4,5].

苯乙烯基树脂的极性基团修饰是新型吸附剂开发的一个重要方向. 由于很多中药有效成分如黄酮类、蒽醌类、多酚类物质都含有酚羟基结构, 我们以苯酚为小分子探针, 采用高速魔角旋转结合氘稀释固体 NMR 技术, 研究了酚羟基与非交联型极性吸附材料聚乙烯基吡啶的相互作用机理, 为开发针对含酚羟基结构的中药有效成分的吸附剂提供了理论指导.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

氘代苯酚(Ph-D, d-6, Aldrich 公司); 苯酚(分析纯, 天津市科锐思试剂公司); 聚 4-乙烯基吡啶(P4VP, $M_w = 60000$, Aldrich 公司).

THZ88-1 型台式多用恒温振荡器; Varian Infinityplus-400 Wide Bore 核磁共振谱仪, 采用 2.5 mm T3 双共振 CPMAS 探头, 可允许氧化锆转子稳定旋转至 30 kHz; Bruker Avance 400 BBO 核磁共振仪.

1.2 实验过程

配制相同质量浓度的 P4VP 和氘代苯酚的甲醇溶液, 按照体积比 1:1 将苯酚溶液与 P4VP 溶液混合, 在 25 °C 下振荡过夜. 于室温下缓慢抽真空除去溶剂, 于 80 °C 干燥, 得到样品标记为 P4VP/Ph-D.

SSNMR 实验在室温下进行. 以金刚烷为外标, 在高速魔角旋转下, 通过循环使用一个偶极滤波脉冲序列^[2,5]过滤掉样品中 ¹H-¹H 之间的强偶极-偶极作用的成分, 只检测到弱的偶极-偶极作用. 理论

收稿日期: 2008-08-06.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20634030)资助.

联系人简介: 袁 直, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事生物医用高分子材料研究. E-mail: zhiy@nankai.edu.cn

上, 当氘核与聚合物中的氢核相互接近至 0.5 ~ 1.0 nm 时, 氘核(D)对氢核(H)浓度的稀释作用使 ^1H - ^1H 之间的强偶极-偶极相互作用变弱, 检测到的信号增强. 氘核对质子的偶极稀释能力与氘核的浓度和 H-D 接近程度有关. 质子附近的 D 浓度越大, 二者的距离越近, 则偶极稀释能力越强, 稀释后质子信号增强程度越大^[5]. 所使用的 90° 脉冲长度为 1.5 μs , 脉冲间距 τ 为 10 μs , 偶极滤波脉冲序列循环次数为 8 次, 转子转速 25 kHz, 采样次数为 32 次. 实验数据在 Varian Spinsight 软件上进行处理.

配制 20 mg/mL 的苯酚氯仿溶液, 加入相同质量的 P4VP, 用 Bruker Avance 400 核磁共振仪于室温下, 对加入 P4VP 前后的样品采集 ^1H NMR 数据, 在 Topspin 软件上进行处理.

2 结果与讨论

2.1 聚乙烯吡啶与苯酚相互作用的固体核磁研究

P4VP 中存在较强的 ^1H - ^1H 偶极作用, 通过偶极滤波后, MAS 谱图[图 1(A)]中样品信号变得很弱, 吡啶环上邻 N 的 3,5-H 和远离 N 的 2,6-H 的残余信号合并成一个宽峰, 无法区分. 与 Ph-D 作用后, P4VP 中 3,5-H 信号获得极大增强, 说明 3,5-H 与氘代苯酚的距离在 1.0 nm 以内; 而 2,6-H 及主链质子信号增强程度较小, 则远离 Ph-D, 由此说明 P4VP 与苯酚的作用位点在靠近 N 的一端. 由于酚羟基有弱酸性, 是良好的氢键给体, 吡啶环的 N 上有裸露的孤对电子, 是氢键受体, 二者之间可以产生很强的 $\text{N}\cdots\text{H}-\text{O}$ 氢键作用. 因此上述 MAS 结果揭示了在 P4VP/Ph-D 中可能存在很强的氢键作用.

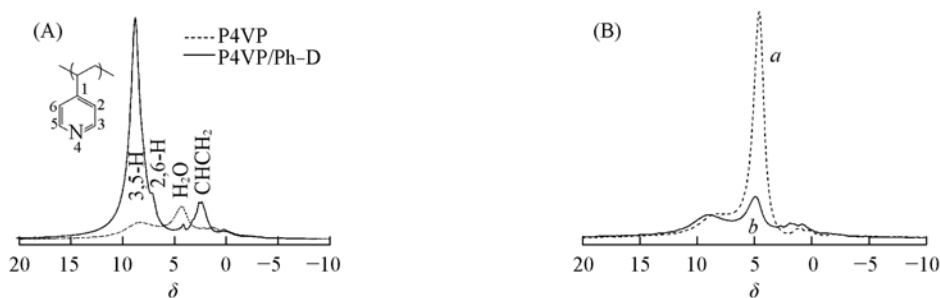


Fig. 1 MAS NMR spectra of P4VP/Ph-D and P4VP(A) and MAS NMR spectra of P4VP before (a) and after (b) drying (B)

2.2 聚乙烯吡啶与苯酚相互作用的液体核磁研究

为验证固体核磁结论, 我们以氘代氯仿为溶剂, 通过液体 ^1H NMR 研究了苯酚与 P4VP 的相互作用(图 2). 结果发现, 加入 P4VP 24 h 后, 相同浓度苯酚的化学位移有了很大改变. 除羟基邻位的 2,6-H 向高场偏移 0.03 外, 其余质子均向低场偏移. 其中对位 4-H 偏移 0.03, 间位质子偏移 0.02, 说明苯酚与 P4VP 之间存在相互作用. 而羟基质子向低场偏移达 1.65, 且峰型由尖峰变成一个宽达 200 Hz 的

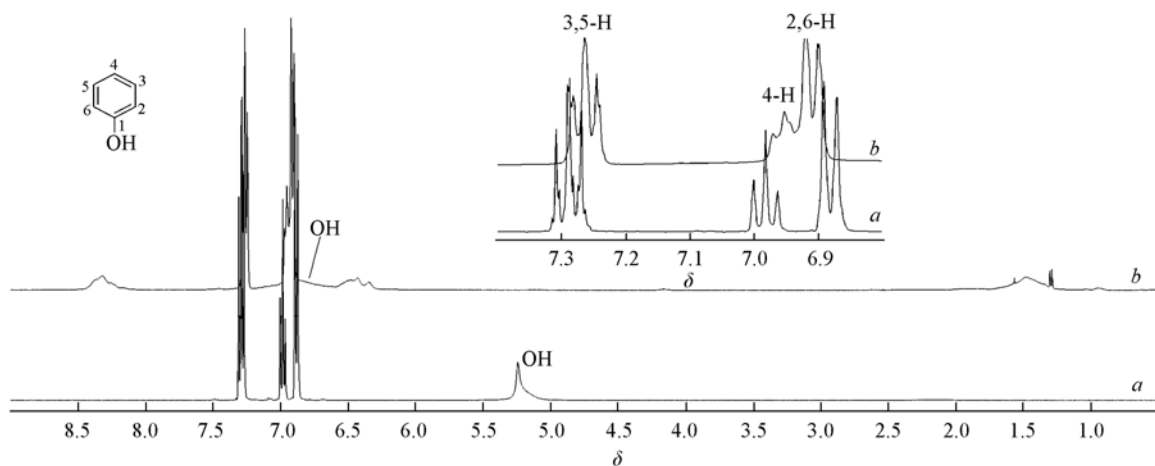


Fig. 2 ^1H NMR of phenol (a) and phenol/P4VP (b) in CDCl_3

Both of the sample concentrations were 40 mg/mL.

包峰. 正是由于酚羟基质子与吡啶环上的 N 形成了很强的 N \cdots H—O 氢键作用, 使得弛豫变得很慢, 峰展宽严重的缘故, 从而验证了固体核磁的结论, 说明偶极滤波魔角旋转结合氘稀释 SSNMR 技术是研究此类相互作用的有效手段. 由于 SSNMR 对样品的溶解性无要求^[6], 因此可以用来研究溶解性较小的中药分子与不溶性的交联吸附剂之间的相互作用, 有望成为原位研究吸附机理的有力手段^[7,8].

2.3 水与苯酚的竞争

P4VP 样品经水洗纯化, 虽然使用前经 100 °C 真空干燥至恒重, 但仍有部分残留的“束缚水”(约 δ 5.5 处)存在[图 1(B)], 这可能是由于 P4VP 与水形成了 N \cdots H—O 氢键所致. 由于水是运动极快的小分子, 而实验中采用的方法对小分子的检测非常灵敏, 因此样品结合的微量水在 MAS 谱中也能显示出很强的峰. 与 Ph-D 作用后, P4VP/Ph-D 中水峰信号减弱[图 1(A)], 说明弱酸性的苯酚与弱碱性的 P4VP 之间存在更强的 N \cdots H—O 氢键作用, 使苯酚部分置换了 P4VP 中的水分子. 因此, P4VP 吸附材料可以有效地吸附水中的含酚羟基物质. 很多中药有效成分中含有酚羟基, 因此在中药有效成分的吸附分离中, 在常用的苯乙烯树脂上引入适量的 4-乙烯吡啶吡啶, 将有助于有效吸附分离含酚羟基的中药成分.

参 考 文 献

- [1] Egger N., Schmidrohr K., Blumich B., *et al.*. Appl. Polym. Sci. [J], 1992, **44**: 289—295
- [2] Sun P. C., Dang Q. Q., Li B. H., *et al.*. Macromolecules [J], 2005, **389**(13): 5654—5667
- [3] Li B. H., Xu L., Wu Q., *et al.*. Macromolecules [J], 2007, **40**(16): 5776—5786
- [4] Schmidt-Rohr K., Spiess H. W. Multidimensional Solid-state NMR and Polymers [M], San Diego: Academic Press, 1994
- [5] Wang X. L., Gu Q., Sun Q., *et al.*. Macromolecules [J], 2007, **40**(25): 9018—9025
- [6] XU Wen(徐旻), ZHANG Hui-Ping(张惠平), CHEN Qun(陈群), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2004, **25**(10): 1901—1904
- [7] WEI Zhong(魏忠), HUANG Wei(黄微), LI Ji-Hong(李纪红), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2007, **28**(9): 1735—1738
- [8] LI Ji-Hong(李纪红), YU Mei(俞枚), WANG Hui-Yan(王辉彦), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2006, **27**(6): 1066—1069

Interaction Between Phenol and Poly(4-vinylpyridine) Using Solid State NMR Method

ZHANG Jing^{1,2}, CHEN Ying-Chao¹, ZHANG Sai-Hui¹, SUN Ping-Chuan¹, YUAN Zhi^{1*}

(1. Key Laboratory of Functional Polymer Materials, Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry, College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China;

2. Wuxi Pharmatech Co. Ltd, Shanghai 200131, China)

Abstract The interaction between phenol and poly(4-vinylpyrprine) was investigated by means of the technique of dipolar filtered fast magic angle spinning (DF-MAS) combined with deuterium dilution ¹H NMR. Experiment results reveal that strong hydrogen bond exist between phenol and poly(4-vinlypyridine), which is in good agreement with the data obtained from liquid state ¹H NMR. Moreover, the difference in signals of water in MAS NMR disclosed that water was replaced by phenol in the binding with P4VP, and the interaction site between P4VP and phenol was on the H atoms which were near the N atom. Thus, this protocol was proved to be a powerful method for studying adsorption mechanism between insoluble adsorbents and target molecule *in situ*, which may facilitate the designing for new materials for adsorption and separation.

Keywords Hydrogen bond; DF-MAS NMR; Deuterium dilution; Small molecule probe

(Ed.: H, J, Z)