

荧光探针法测定 β -环糊精内腔极性及其 芘包络物形成常数

江云宝 黄贤智 陈国珍

(厦门大学化学系, 厦门 361005)

关键词 荧光探针、 β -环糊精、内腔极性、包络物形成常数

环糊精 (Cyclodextrin, 简称 CD) 是一类筒状的低聚葡萄糖, 主要有 α -、 β -和 γ -CD 三种, 其中葡萄糖单体数分别为 6、7、8。环糊精的一个重要性质是可以与多种化合物形成包络物, 因而显示出其在催化反应和化学仿生学上的意义^[1-3]。结构上的主要特征在于其内腔是非极性的而外侧是极性的。内腔的极性大小对于形成包络物是一个至关重要的因素, 而定量地描述其极性的大小还少见报道^[4]。本文报道用芘作为荧光探针, 测量 β -CD 内腔极性的方法, 同时提出了一种测定芘/ β -CD 包络物形成常数 K_c 的简便方法。

一、实 验

芘为 Aldrich 产品, 使用前未经进一步纯化。 β -CD 系苏州味精总厂产品, 经去离子水重结晶。荧光光谱用 Hitachi 850 型荧光光谱仪测绘, 336nm 激发, 激发和发射单色器狭缝均为 5nm, 扫描速率为 60nm/min, 积分荧光光谱面积 (350—500nm) 计算荧光强度。整个实验在室温下进行 (20—22℃)。

二、结果与讨论

芘是一种著名的介质极性的荧光探针^[5], 其单体的荧光发射光谱中第三谱带 ($\sim 384\text{nm}$) 与第一谱带 ($\sim 373\text{nm}$) 强度之比 (I_3/I_1) 与其所处环境的极性之间有良好的相关性, I_3/I_1 值越大, 对应的极性越小。本文利用芘的这一特性以及芘与 β -CD 之间形成 1:1 包络物的性质^[4] 来研究 β -CD 内腔的极性。实验中观察到当芘的浓度不变时, 随着 β -CD 浓度的变化, 芘的荧光光谱发生了明显的变化, 但始终未观察到芘的激基缔合物荧光 ($\sim 470\text{nm}$), 如图 1 所示, 这可能与体系中芘的浓度很低 ($1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$) 有关。因而测得的 I_3/I_1 值可以作为极性大小的一个标度。芘的荧光光谱具有精细结构, 而环糊精对每个谱带强度的影响程度不同。芘的某一荧光峰高的变化不能用来反映其荧光强度的变化。在研究芘-环糊精包络物时, 尚未见报道芘的荧光强度与环糊精浓度之间的关系, 而主要侧重于芘的荧光光谱的 I_3/I_1 值的变化。我们设想, 在芘/ β -CD 体系中, 随着芘被逐渐包络进入环糊精内腔, 其 I_3/I_1 特征值和荧光强度应同时随着变化, 因此仔细考察了较大范围的 β -CD 浓度区间内, 芘的 I_3/I_1 值和荧光强度与 β -

本文 1989 年 5 月 16 日收到, 1989 年 9 月 19 日收到修改稿。

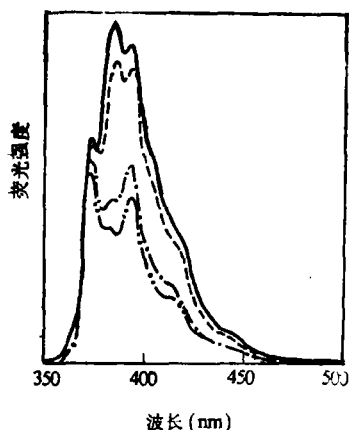


图1 不同 β -CD浓度时芘的荧光光谱
芘的浓度为 $1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ ， β -CD浓度分别为
0(---); $4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ (- · - · -); $2 \times$
 10^{-3} mol/L (----); $7 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ (—)

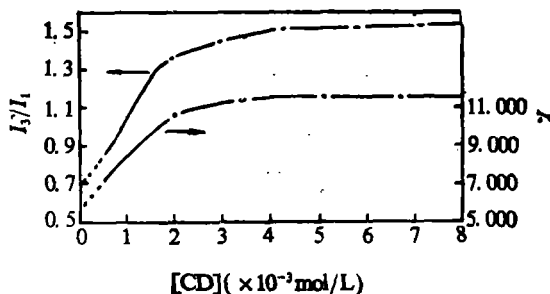


图2 不同 β -CD浓度下芘的荧光光谱 I_3/I_1 特征
值和荧光强度
芘的浓度为 $1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$

CD浓度的关系,并将二者进行关联分析.图2示出了不同 β -CD浓度时,芘的荧光光谱的 I_3/I_1 值和芘的荧光强度 I .从图中可以看到,在 β -CD浓度较低时, I_3/I_1 值和 I 值均随 β -CD浓度的增大而增大,这是由于芘与 β -CD形成了包络物而从极性的水相进入了非极性的 β -CD空腔并被部分地屏蔽于一些荧光猝灭因素(如水、氧等).重要的是我们同时也注意到,当 β -CD浓度增大到一定程度后, I_3/I_1 值和 I 值都趋于恒定,有关这点尚未见报道,我们认为这可能意味着芘达到了“饱和”包络,因此可认为这时的 I_3/I_1 值和 I 值分别体现了芘“全部”包络于 β -CD内腔时的相应值.显然这个 I_3/I_1 值直观地标示了 β -CD内腔的极性.我们求得对应 β -CD内腔极性的 I_3/I_1 值为1.53.与环己烷的相应值^[2]1.68比较可知, β -CD内腔确是非极性的,其极性略大于环己烷,这与环糊精的结构是相符的.该值与经数值试探法获得的结果^[4]1.47也较为一致,表明我们的结果是可靠的,有关的推论是正确的.但是本文提出的方法更为直观,结果的物理意义亦更加明确.

由于芘作为荧光探针在研究环糊精包络物中的重要作用,表征芘-CD包络物性质的重要参数之一的包络物形成常数 K_c 的测定自然引起人们的重视^[4,6,7].但由于芘在水中溶解度很小($\sim 5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$)^[4]以及性质不活泼之故,大部分测定 K_c 的方法^[1]都无能为力,文献中报道的方法均基于高灵敏度的荧光光谱法.Nakajima^[4,6]曾用环糊精对芘的荧光光谱振动谱带的增强以及芘的荧光光谱随时间的变化测定了芘- β -CD包络物的形成常数,但方法中涉及到数值试探和繁琐的数学处理.Nelson等^[7]用时间分辨荧光光谱法测定了脂肪醇存在下芘- γ -CD包络物的形成常数,方法较为新颖,但其数学处理上有一定的近似性,并且设备昂贵因而不易实现.显然寻找简便易行的测定方法仍是人们努力的方向.我们从实验中观察到的芘的荧光强度与 β -CD浓度的关系出发,提出了一种新的更为简便的测定芘- β -CD包络物的形成常数 K_c 的方法.对于(1)式所示的包络过程,可以导出(2)和(3)式^[8].



$$K_c = [P - CD]/[P][CD], \quad (2)$$

$$\frac{I - I_0}{I_\infty - I} = K_c[CD]. \quad (3)$$

上式中P代表芘, P-CD代表芘-CD包络物, I_0 为无CD时芘的荧光强度, I 为不同CD浓度时体系的荧光强度, I_∞ 为芘“全部”与CD形成包络物时的荧光强度。[CD]为 β -CD的平衡浓度,因体系中CD大大地过量于芘,可直接用CD的初始浓度代替。图3示出了芘- β -CD体系的 $\frac{I - I_0}{I_\infty - I} \sim [CD]$ 曲线。从得到的直线的斜率求出 K_c 值为 550M^{-1} ,直线的相关系数为0.988。测得的 K_c 值与文献值(190M^{-1} , 625M^{-1})^[4,6]在数量级上一致,与芘- γ -CD包络物的 K_c 值(270M^{-1})^[7]比较亦是合理的,说明本文的结果是可靠的,但方法上明显地较为简便。

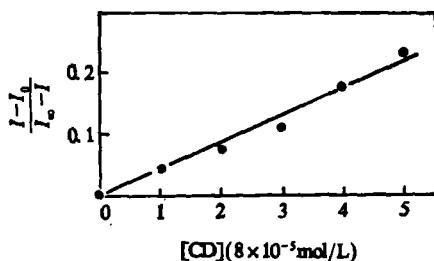


图3 芘- β -CD体系的 $\frac{I - I_0}{I_\infty - I} \sim [CD]$ 曲线
芘浓度为 1×10^{-7} mol/L

参 考 文 献

- [1] Bender, M. L. and Komiyama, M., *Cyclodextrin Chemistry*, Springer-Verlag, New York, 1978.
- [2] Fendler, J. H. and Fendler, E. J., *Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*, Academic Press, New York, 1975.
- [3] Fendler, J. H., *Membrane Mimetic Chemistry*, John-Wiley & Sons, New York, 1982.
- [4] Nakajima, A., *Spectrochim. Acta*, 39A(1983), 913—915.
- [5] Kalyanasundaram, K. and Thomas, J. K., *J. Am. Chem. Soc.*, 99(1977), 2039—2044.
- [6] Nakajima, A., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 57(1984), 1143—1144.
- [7] Nelson, G., Patonay, G. and Warner, I. M., *Anal. Chem.*, 60(1988), 274—279.
- [8] 江云宝、黄贤智、陈国参,中国化学会第二届发光分析学术会议论文集,1988,B72.