

## 荧光各向异性法研究环糊精包络物

江云宝 黄贤智 陈国珍

(厦门大学化学系, 厦门, 361005)

**摘要** 推导了用荧光各向异性法测定环糊精包络物平衡结合常数的方程式, 并用于测定 $\beta$ -环糊精包络物的结合常数, 获得了满意的结果. 依据推得的方程式并结合各向异性~环糊精浓度曲线讨论了环糊精包络物存在形式及主-客体作用方式, 预计了以萘衍生物为配体的金属离子分析方法应用 $\beta$ -环糊精的可能性.

**关键词** 荧光各向异性 环糊精包络物 结合常数

通常条件下小分子荧光体在水溶液中荧光偏振度或各向异性值很小, 当其结合到大分子上后, 有效转动扩散速率减小, 荧光偏振度或荧光各向异性值显著增大, 这在用荧光探针研究生物大分子体系中已得到了广泛的应用<sup>[1]</sup>. 环糊精是淀粉的酶促降解物, 具有筒状结构, 可与多种化合物形成包络物, 使其在化学仿生、催化及分析化学等领域中有着广泛的应用<sup>[2~4]</sup>. 可以预计, 荧光体(客体)被包络进入环糊精(主体)空腔后, 其荧光偏振度或各向异性值也将可能增大. 本文报道利用荧光体在被包络前后荧光各向异性值的变化来测定环糊精包络物的结合常数, 并用于判断包络物的存在形式及主-客体作用方式. 这些结果对于研究环糊精溶液中的包络平衡及其应用将有重要的参考价值.

### 基本原理

对于式(1)所示的包络平衡, 包络物结合常数  $K_A$  由式(2)定义:



$$K_A = [S-CD]/[S][CD] \quad (2)$$

式中, S、CD 和 S-CD 分别表示荧光体、环糊精和包络物, [S]、[CD]和[S-CD]分别为相应物种的平衡浓度.

令  $r_F$ 、 $r_B$  分别为自由的荧光体和包络物的荧光各向异性值,  $r$  为体系总的荧光各向异性值, 则

$$r = f_1 r_F + f_2 r_B \quad (3)$$

$f_1$ 、 $f_2$  分别为 S 和 S-CD 荧光对体系总荧光强度的贡献. 显然

$$f_1 + f_2 = 1 \quad (4)$$

若 S-CD 与 S 的荧光量子产率相近, 则

$$[S-CD]/[S] \approx f_2/f_1 \quad (5)$$

联立式(2)~(5), 可得

收稿日期: 1990-06-07. 联系人: 江云宝.

$$(\tau - \tau_F)/(\tau_B - \tau) = K_A[CD] \quad (6)$$

式(6)为用荧光各向异性法测定  $K_A$  的方程式. 实验测得  $\tau$ 、 $\tau_F$  和  $\tau_B$  并按上式处理可得  $K_A$ . 因一般 CD 大大过量于 S, 故  $[CD]$  可由其初始浓度表示.

## 实 验

### 1 仪器与试剂

Hitachi 650-10 S 荧光光谱仪及其偏振附件.

苾为 Aldrich 产品. 蔡为北京化工厂 A. R. 试剂.  $\beta$ -环糊精系苏州味精厂产品, 经去离子水重结晶. 水为去离子水.

### 2 方 法

配制含苾或蔡的不同  $\beta$ -CD 浓度的水溶液, 在荧光光谱仪上测定以偏振片不同放置方式时的荧光强度, 并按下式计算荧光各向异性值<sup>[1]</sup>

$$r = (I_{\parallel} - GI_{\perp})/(I_{\parallel} + 2GI_{\perp}) \quad (7)$$

## 结果与讨论

### 1 苾- $\beta$ -CD 包络物结合常数的测定

苾由于其特殊的光物理行为, 已被广泛地用于研究有序介质(如环糊精)的性质. 环糊精包络物的结合常数是表征其性质的一个重要参数, 然而由于苾在水中的低溶解度及其化学性质不活泼, 测定  $K_A$  的一般方法不适于苾/ $\beta$ -CD 体系, 而主要依靠高灵敏度的荧光光谱法<sup>[5]</sup>. 在苾/ $\beta$ -CD 体系中随着  $\beta$ -CD 浓度增大, 苾的荧光各向异性值逐渐增大, 当  $\beta$ -CD 达某一浓度后各向异性值基本恒定(图1). 该浓度值与前文<sup>[5]</sup>报道的苾的荧光强度及  $I_3/I_1$  比值恒定时相应的  $\beta$ -CD 浓度基本一致, 表明此时的荧光各向异性的恒定值为苾- $\beta$ -CD 包络物的荧光各向异性值  $\tau_B$ . 在选定的激发及发射波长处, 体系的荧光强度随  $\beta$ -CD 浓度逐渐增大, 但与初始值(即无  $\beta$ -CD 时)之比均小于 1.5, 显然符合题设要求. 按式(6)处理数据可得一条过零点的直线(图2), 相关系数为 0.9987, 由其斜率求得苾- $\beta$ -CD 包络物  $K_A$  值为 610 L/mol, 与前文<sup>[5]</sup>

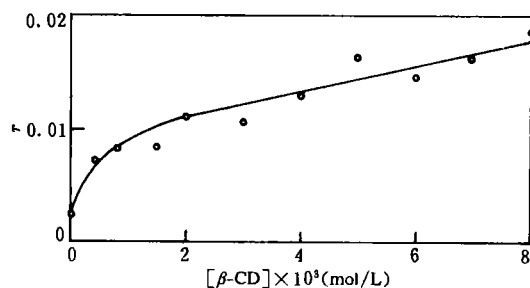


图1 苾/ $\beta$ -环糊精体系荧光各向异性值随  $\beta$ -环糊精浓度变化曲线

激发和发射波长分别为 295 nm 和 395 nm,  
苾浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L.

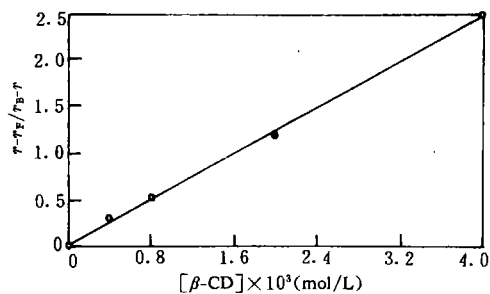
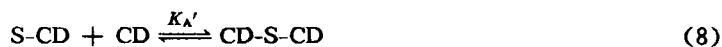


图2 苾/ $\beta$ -CD 体系  $(\tau - \tau_F)/(\tau_B - \tau)$  对  $\beta$ -CD 浓度曲线

结果(550 L/mol)一致,表明本文提出的方法是可行的.本法尤其适于荧光体的荧光强度在被环糊精包络前后变化不大的体系,而此时一般的稳态荧光法均不适应.体系荧光各向异性值的变化可作为环糊精包络物形成的一个新的标志.在一些体系中荧光强度变化较小,则不能由稳态荧光法判断包络物的形成,因为通常包络物的形成使荧光光谱位移很小,甚至为零.

## 2 环糊精包络物的存在形式

当体系中 CD 浓度较高时,可能会出现二级包络,如式(1)及



即2个环糊精分子包络1个客体分子.这时体系中荧光体以3种形式存在,即 S、S-CD 和 CD-S-CD. 不难理解,若  $r_{S-CD} > r_S$ , 则  $r_{CD-S-CD} > r_{S-CD}$ .

由式(6)有

$$r = \frac{r_F + r_B K_A [CD]}{1 + K_A [CD]} \quad (9)$$

上式对[CD]求导,有

$$\frac{dr}{d[CD]} = \frac{(r_B - r_F)K_A}{(1 + K_A[CD])^2} \quad (10)$$

一般地  $r_B \geq r_F$ , 因此式(10)表明  $r \sim [D]$  曲线的曲率将随[CD]增大而减小直至趋于零,即  $r$  随[CD]的增速渐渐减小,最后在  $r \sim [CD]$  曲线上出现一个“平台”.若发生二级包络,在极端情况下,即 S 与 CD 全部形成 S-CD 后再与 CD 形成 CD-S-CD,体系的  $r \sim [CD]$  曲线应是在出现一个“平台”后又逐渐上升,然后再出现一个“平台”.实际上并不是 S 与 CD 全部形成 S-CD 后才发生二级包络,而是有部分“重叠”,因此第一个“平台”可能是肩峰.依据上述分析,认为可由  $r \sim [CD]$  曲线上出现的肩峰及平台数目来确定包络级数或包络物存在形式.从图1可知,在芘/ $\beta$ -CD 体系中, $\beta$ -CD 浓度在  $0 \sim 8 \times 10^{-3}$  mol/L 之间的  $r \sim [CD]$  曲线上只出现一个平台,因此可以认为在这个浓度范围内芘与  $\beta$ -CD 间只有一级包络,这与文献<sup>[5]</sup>结果一致.

## 3 主-客体作用方式

图3示出了萘/ $\beta$ -CD 体系的  $r \sim [CD]$  曲线.可以看出,  $r$  值几乎不随 CD 浓度变化而变化;与芘/ $\beta$ -CD 体系结果(图1)不同,但荧光强度法已经表明萘与  $\beta$ -CD 可形成包络物,其结合常数为 2665 L/mol<sup>[6]</sup>.这意味着萘被包络进入  $\beta$ -CD 空腔后仍然可自由转动,而芘的转动自由度显著下降.  $\beta$ -CD 空腔的平均内径为 0.7 nm,萘和芘的分子尺寸分别为 0.5 nm  $\times$  0.71 nm 和 0.71 nm  $\times$  0.89 nm. 比较芘和萘的分子结构(图4)可知,萘分子以“赤道向”进入  $\beta$ -CD 空腔,环糊精包络物中主-客体间的相互作用并非二者之尺寸大小的匹配,而主要是“疏水相互作用”<sup>[7]</sup>.萘在  $\beta$ -CD 空腔中的分子取向可以预计萘衍生物或以其为配体的金属离子的分析方法中或以其为底物的催化反应中应用  $\beta$ -CD 的可能性.如可预计 8-羟基喹啉与  $\beta$ -CD 作用较小,这已被我们的实验证实.因此,在以 8-羟基喹啉为配体的金属离子光度分析(尤其是荧光分析)中应用  $\beta$ -CD 将观察不到其通常起

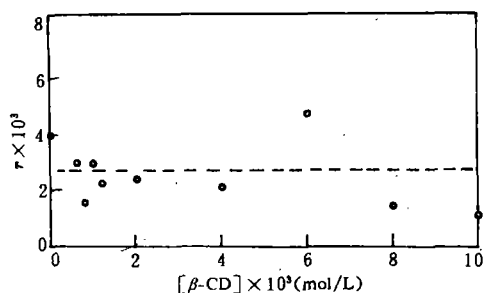


图3 萘/ $\beta$ -CD 体系  $r \sim [CD]$  曲线  
激发和发射波长分别为 280 nm 和 340 nm,  
萘的浓度为  $3.0 \times 10^{-6}$  mol/L.

到的提高选择性及保护被包络物(在荧光分析中即为提高荧光量子产率)的作用。

综上所述,本文依据推得的测定方程式并结合体系荧光各向异性值对环糊精浓度曲线讨论了包络物在溶液中的存在形式,指出 $r \sim [CD]$ 曲线上的肩峰及平台数即为体系中的包络级数,因此得到芘/ $\beta$ -CD 体系中 $\beta$ -CD 浓度在 $0 \sim 8 \times 10^{-3}$  mol/L 之间只有一级包络的结论。比较了萘/ $\beta$ -CD 和芘/ $\beta$ -CD 体系的 $r \sim [CD]$

曲线,指出萘分子以“赤道向”进入 $\beta$ -CD 空腔,依此预计了 $\beta$ -CD 应用于以萘衍生物为基础的分析方法及催化反应中的可能性。

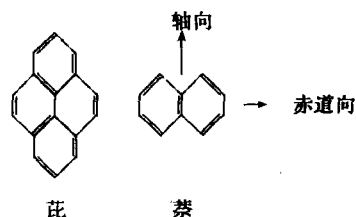


图4 芘和萘的分子结构

### 参 考 文 献

- 1 Lakowicz J. R. ; Principles of Fluorescence Spectroscopy, New York and London; Plenum Press, 1983
- 2 Bender M. L. , Komiyama M. , Cyclodextrin Chemistry, Berlin; Springer-Verlag, 1978
- 3 Fendler J. H. , Fendler E. J. , Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems, New York; Academic Press, 1975
- 4 陈国亮,章道道;化学通报,1988,(7):1
- 5 江云宝,黄贤智,陈国珍;科学通报,1990,35:120
- 6 江云宝;厦门大学理学博士论文,1990
- 7 Jiang Y. B. , Huang X. Z. , Chen G. Z. ; Advances in Photochemistry, Ed. by Zhang B. W. , Tung C. H. , Wu S. K. , Beijing, International Academic Publishers & Pergamon Press, 1989; 406

## Studies on Cyclodextrin Inclusion Complex with Fluorescence Anisotropy

Jiang Yun-bao, Huang Xian-zhi, Chen Guo-zhen

(Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen, 361005)

**Abstract** An equation for the determination of equilibrium association constant ( $K_A$ ) of cyclodextrin inclusion complex with fluorescence anisotropy was derived and used to determine  $K_A$  of pyrene- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex satisfactorily. The existing form of inclusion complex and the host-guest interaction were discussed based on the derived equation along with the curve of fluorescence anisotropy versus cyclodextrin concentration for guest/cyclodextrin system. The possibility of application  $\beta$ -cyclodextrin in the analysis of metal ion using naphthalene derivative as a ligand was predicted.

**Keywords** Fluorescence anisotropy, Cyclodextrin inclusion complex, Association constant

(Y,S)