

# 荧光光谱滴定法研究对磺酸基杯[4]芳烃对吡啶的包结作用

周运友, 卢琴, 刘春, 余世科, 杨续来, 王伦

安徽省功能性分子固体重点实验室, 安徽师范大学化学与材料科学学院分析科学研究所, 安徽 芜湖 241000

**摘要** 合成了对磺酸基杯[4]芳烃(1), 并用荧光光谱滴定法研究了不同温度下(1)在柠檬酸缓冲溶液( $\text{pH}=5.92, 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )中对吡啶的包结行为。在一定的浓度范围内, 当加入(1)后, 吡啶的荧光峰有红移, 且荧光强度随着所加的(1)浓度的增大而发生猝灭。结果显示二者形成了1:1的稳定包合物。计算了在15.0, 20.0, 25.0及30.0℃下的包结稳定常数, 它们依次为 $3.08 \times 10^5$ ,  $4.45 \times 10^4$ ,  $2.58 \times 10^4$ 和 $8.90 \times 10^3$ , 并计算了热力学参数 $\Delta G$ ,  $\Delta H$ 和 $\Delta S$ 。结果说明反应是放热的且是焓变驱动的。其包结机理可能为吡啶部分进入了对磺酸基杯[4]芳烃的空腔中, 且吡啶稠环的质子化的N原子与(1)的一个 $\text{SO}_3^-$ 基团之间以较强的静电作用成键; 在此强静电作用的驱动下以及较弱的范德瓦耳斯力、疏水作用的辅助下主客体形成了1:1的配合物。

**关键词** 对磺酸基杯[4]芳烃; 吡啶; 荧光光谱滴定; 包结稳定常数; 静电作用

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2006)09-1627-04

## 引言

作为第二代超分子的环糊精对药物进行包结可显著提高药物的水溶性、稳定性及生物活性等物化性质<sup>[1-3]</sup>, 因此环糊精已在制药工业和相关领域得到了广泛的应用<sup>[4]</sup>。自20世纪80年代初 Gutsche 优化了一步法合成杯芳烃的成熟路线以来, 杯芳烃化学获得了突飞猛进的发展<sup>[5]</sup>, 被誉为继冠醚、环糊精之后的第三代超分子化合物。磺化杯芳烃由于克服了杯芳烃水溶性差的缺陷且易于制备而倍受关注, 有关磺化水溶性杯芳烃对三甲基铵阳离子<sup>[6, 7]</sup>、染料分子<sup>[8, 9]</sup>、有机小分子<sup>[10]</sup>等的包结配位或分子识别作用陆续见诸报道。近年来, 对磺酸基杯[*n*]芳烃( $n=4, 6, 8$ )及其衍生物的生物活性及在医药上的潜在应用价值也引起了人们的关注<sup>[11-13]</sup>。然而相对于环糊精对药物的包结在制药工业及分析化学上的广泛应用而言, 已有的研究工作仅处于起步阶段, 多侧重于磺化杯芳烃自身的包结能力和生物活性, 研究其与药物或药物中间体的相互作用的较少<sup>[13]</sup>。吡啶类化合物是一类十分重要的杂环化合物, 是许多药物的中间体<sup>[14]</sup>, 且具有良好的荧光性能, 在生物及药物分析上也有广泛应用<sup>[15, 16]</sup>; 因此, 研究磺化杯芳烃与吡啶的相互作用

具有直接而现实的意义。至今为止, 相关的研究尚未见报道。本文用荧光光谱滴定法研究了溶液体系中对磺酸基杯[4]芳烃对吡啶盐酸盐的包结作用, 并对包结机理等一些基本问题进行了探讨, 初步验证了溶液体系中对磺酸基杯[4]芳烃和吡啶包结行为的可行性, 这些研究有助于扩展水溶性杯芳烃在药物分析领域中的应用范围, 同时也为提高吡啶类药物的利用度提供了一定的理论指导意义。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

日本 Hitachi F 4500 型荧光光谱仪(仪器附有恒温池)。

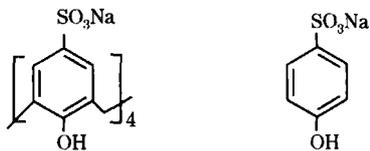
对叔丁基杯[4]芳烃、脱叔丁基杯[4]芳烃、对磺酸基杯[4]芳烃分别按文献<sup>[17-19]</sup>制备, 经<sup>1</sup>H NMR, IR 和元素分析确证; 对羟基苯磺酸钠(分析纯, 上海化学试剂公司); 吡啶盐酸盐(瑞典 Fluka Chemie AG 产品), 纯度 98.5%; 实验用水为石英亚沸水。整个实验过程中使用柠檬酸/柠檬酸三钠缓冲液( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{pH} 5.92$ )作为溶剂。

对磺酸基杯[4]芳烃、吡啶盐酸盐和对羟基苯磺酸钠均配置成 $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液, 再稀释为 $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液备用, 这三种化合物的结果见 Scheme 1。

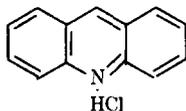
收稿日期: 2005-08-22, 修订日期: 2005-11-28

基金项目: 国家自然科学基金(20375001)和安徽省教育厅教学研究基金(JYXM 2003174)资助

作者简介: 周运友, 1954年生, 安徽师范大学化学与材料科学学院教授



1. 对磺酸基杯[4]芳烃 2. 对羟基苯磺酸钠



3. 吡啶盐酸盐

Scheme 1 Structural formula

## 1.2 实验方法

所选用的客体吡啶(3)的环境发生变化时,其相对荧光强度也会发生变化,这种光谱的变化可以用来测定主-客体包结作用的稳定常数。在实验中,固定客体吡啶的最终浓度为  $2.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,改变主体对磺酸基杯[4]芳烃的浓度,观测荧光光谱变化。根据公式进行包结稳定常数的计算。

具体方法如下:(1)准确移取  $0.2 \text{ mL } 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的吡啶溶液于系列  $10 \text{ mL}$  容量瓶中,以不加对磺酸基杯[4]芳烃的溶液为空白溶液,然后依次准确加入不同量( $0.2 \sim 1.2 \text{ mL}$ )  $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的对磺酸基杯[4]芳烃溶液,用柠檬酸/柠檬酸三钠缓冲液( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 5.92)稀释至刻度,摇匀。静置  $15 \text{ min}$  后测定其荧光光谱。仪器参数为:光栅狭缝宽度  $5 \text{ nm}/5 \text{ nm}$ ,电压  $700 \text{ V}$ ,  $\lambda_{\text{ex}}^{\text{max}}/\lambda_{\text{em}}^{\text{max}} = 358 \text{ nm}/477.6 \text{ nm}$ 。根据公式(3)(见下)计算包结稳定常数。

(2)按照(1)所述实验方法,分别测定温度为  $15.0$ ,  $20.0$ ,  $25.0$  及  $30.0$   $^{\circ}\text{C}$  下的荧光光谱。 $(15.0$   $^{\circ}\text{C}$  为实验时室内温度;之后在所需的温度下加热  $15 \text{ min}$  后测定。用恒温槽控制温度误差在  $\pm 0.2$   $^{\circ}\text{C}$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吡啶与对磺酸基杯[4]芳烃的包结作用

吡啶有较强的荧光,在水溶液中它的最大激发峰  $\lambda_{\text{ex}}^{\text{max}} = 358 \text{ nm}$ ,最大发射峰  $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}} = 477.6 \text{ nm}$ 。当加入对磺酸基杯[4]芳烃后,发射峰红移到  $482 \text{ nm}$  处,同时荧光强度随着杯芳烃浓度的增加而降低(见  $20.0$   $^{\circ}\text{C}$  时的荧光光谱图1)。尽管  $\text{SO}_3^-$  基团可以产生猝灭作用,在使用对羟基苯磺酸钠(2)(即对磺酸基杯[4]芳烃的单体,浓度  $1 \sim 1000$  倍)进行滴定实验中,发现其猝灭作用是非常有限的,尤其是与对磺酸基杯[4]芳烃所引起的荧光强度的变化相比,可以忽略。而吡啶位于  $477.6 \text{ nm}$  处的峰则一点也未移动。因此对磺酸基杯[4]芳烃的加入所引起的吡啶荧光峰的红移与猝灭现象主要归因于包结配位作用,应是吡啶进入(或部分进入)了杯芳烃的空腔所致,而不仅仅是  $\text{SO}_3^-$  基团的简单猝灭作用。

### 2.2 化学计量与包结稳定常数的计算

假使主客体形成的超分子配合物的化学计量为  $1:1$ , 则

配位过程可以表示为



则

$$K_s = \frac{[H \cdot G]}{[H][G]} \quad (2)$$

包结稳定常数可根据类似 Benesi-Hildebrand 的公式

$$\frac{1}{\Delta I_f} = \frac{1}{K_s \alpha} \cdot \frac{1}{[H]_0} + \frac{1}{\alpha} \quad (3)$$

计算<sup>[20]</sup>。式中  $[H]_0$  是主体的初始浓度。 $I_f$  是荧光强度,  $I_f = f \cdot c$  ( $f$  为荧光系数,是常数项; $c$  为荧光物质的浓度),  $\Delta I_f$  为包结前后荧光强度变化值,  $\Delta I_f = I'_f - I_f$ 。其中  $I_f$  为主-客体包结前体系的荧光强度; $I'_f$  为主-客体包结后体系的荧光强度。式中  $\alpha = (f_{gh} - f_g - f_h)[G]_0$ , ( $[G]_0$  为客体的初始浓度)  $[G]_0$  一定时  $\alpha$  为常数。从(3)式可知,如用  $\frac{1}{\Delta I_f}$  对  $\frac{1}{[H]_0}$  作图,应得到一条直线。

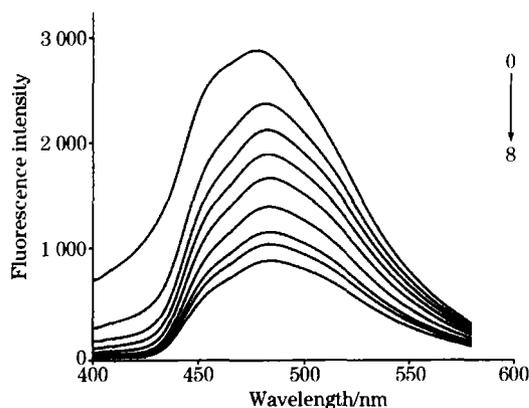


Fig 1 Fluorescence spectra of acridine ( $2.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) at variable concentrations of *p*-sulfonatocalix[4]arene ( $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ): 0: 0; 1: 2.0; 2: 3.0; 3: 4.0; 4: 5.0; 5: 7.0; 6: 8.0; 7: 10.0; 8: 12.0, in aqueous citrate buffer solution (pH 5.92) at  $20.0$   $^{\circ}\text{C}$

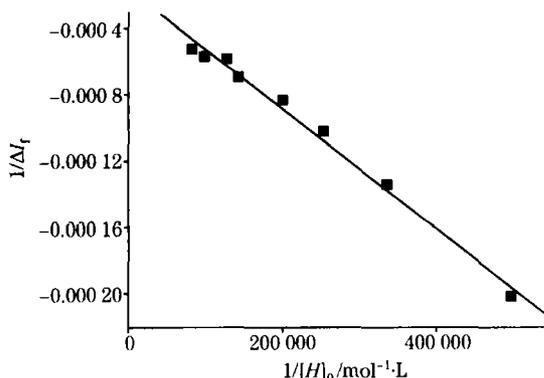


Fig 2 A plot of  $1/\Delta I_f$  vs  $1/[H]_0$  for *p*-sulfonatocalix[4]arene-acridine complex

在此实验中,  $I_f$  即为未加对磺酸基杯[4]芳烃时的吡啶的荧光强度(试剂空白的  $I_f$ );  $I'_f$  为加了不同浓度的对磺酸基

杯[4]芳烃时体系的荧光强度。以  $\frac{1}{\Delta I_f}$  对  $\frac{1}{[H]_0}$  作图, 得到了一条线性关系良好的直线(相关系数  $r = 0.9975$ ), 见图 2。这说明假设是正确的, 主客体的确形成了 1:1 的包结配合物。由图可知拟合直线的斜率为  $-3.62 \times 10^{-9}$ , 截距为  $-1.61 \times 10^{-4}$ , 则  $K_s = \text{截距}/\text{斜率} = 4.45 \times 10^4$ 。

我们在 15.0, 20.0, 25.0 和 30.0 °C 分别测定了四组包结配位常数。进行了重复实验, 包结配位常数  $K_s$  的相对误差一般在  $\pm 5\%$  以内。发现包结常数随温度的升高而减小, 各个温度的  $K_s$  值及  $\lg K_s$  值见表 1。

Table 1  $K_s$  and  $\lg K_s$  values at different temperatures

温度	15.0 °C	20.0 °C	25.0 °C	30.0 °C
$K_s$	$3.08 \times 10^5$	$4.45 \times 10^4$	$2.58 \times 10^4$	$8.90 \times 10^3$
$\lg K_s$	5.49	4.65	4.41	3.95

### 2.3 热力学参数的计算

包结过程中有三个重要的热力学参数, 其中不同温度下的吉布斯自由能的变化值( $\Delta G$ )可由(4)式计算出

$$\Delta G = -RT \ln K_s \quad (4)$$

同时, 由于温度范围不大, 可认为在实验温度范围内焓变  $\Delta H$  和熵变  $\Delta S$  为常数, 则  $\Delta H$  和  $\Delta S$  可由(5)式计算出

$$\ln K_s = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (5)$$

以  $\ln K_s$  对  $\frac{1}{T}$  作图得到一条线性关系很好的直线(相关系数  $r = 0.9956$ ), 由斜率和截距可分别求得  $\Delta H$  和  $\Delta S$ , 各参数值见表 2。

Table 2 The thermodynamic parameters of *p*-sulfonatocalix[4]arene-acridine system

$-\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta H/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1})$
25.2 (at 25.0 °C)	-172.2	-493.6

从表中可知,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  均为负值, 说明反应是放热的。与疏水作用为主要驱动力、熵变驱动的某些经典的环糊精包结体系不同, 本体系的包结主要是焓变驱动的, 这主要归因于客体分子的质子化的 N 原子和主体的带负电的磺酸基之间的较大的静电作用, 同时分子间较小的范德瓦耳斯力和疏水作用也有小部分贡献<sup>[9]</sup>。熵损失主要是由两部分引起的: 分子的几何形状导致的空间位阻, 以及主体空腔对客体分子的自由移动的限制<sup>[21]</sup>。

### 2.4 包结机理探讨

为了更好地考察主客体之间的作用, 本实验中还使用了超分子化合物(1)的单体(2)为主体做了对比实验。Shinkai 等已指出磺化杯[4]芳烃识别的主要驱动力为静电作用<sup>[2]</sup>。虽然(2)也有  $\text{SO}_3^-$  基团, 也可与吡啶稠环中的易质子化而带正电的 N 原子有静电相互作用, 但在滴定实验中, 客体(3)在(2)中的荧光峰几乎无变化, 说明(3)与(2)的作用力极弱;

而(3)在(1)中却有很明显的红移及猝灭现象。比较(1)与(2)的结构, 最大的不同就是(1)有个空腔。这说明(3)进入或部分进入了(1)的空腔。(当然, 由于没有更确切的证据, 我们也不能排除主客体间形成“外式”包合物的可能)由于对磺酸基杯[4]芳烃的空腔较小, 考虑到它与吡啶的尺寸匹配关系, 我们认为吡啶侧着部分进入(即“轴向”进入)较可能, 如图 3 所示。另外, 在酸性介质中, 吡啶稠环中的 N 原子易质子化带正电, 而(1)的  $\text{SO}_3^-$  基团带负电, 当(3)进入(1)的空腔中时, 吡啶稠环的质子化的  $\text{N}^+$  与  $\text{SO}_3^-$  借助于很强的静电作用力(由包结稳定常数的值较大可知二者结合力很强)成盐键, 这也限制了它完全进入(1)的空腔。同时由于二者间的静电作用很强, 限制了电子的内旋使得本该荧光增强的体系却发生了荧光猝灭; 而由静电作用所导致的客体(3)周围环境的改变也使得猝灭效应更大<sup>[9]</sup>。(1)与(3)之间的范德瓦耳斯力和疏水作用也起到了辅助二者形成包合物的作用。

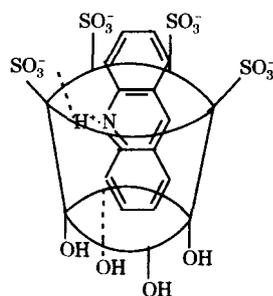


Fig 3 The probable pattern of the inclusion complex between *p*-sulfonatocalix[4]arene (1) and acridine (3)

平衡常数一般随温度升高而增大, 而本实验中包结配位常数却随着温度升高而减小, (相同的现象在环糊精对药物的包结研究中有类似报道<sup>[21]</sup>)。这可能是主客体包合物的盐键离解的原因: 温度越高, 离解的程度越大, 主客体结合的越不牢固, 包结配位常数就越小。可见较低的温度有利于包结物的形成。同时这也可能与吡啶的稳定性有关, 温度越高, 吡啶就越趋于不稳定, 和主体(1)的作用力就越小。因为当温度升高到 40.0 °C 时我们发现吡啶的荧光峰峰形和峰位都已经明显变化了, 这说明吡啶的共轭结构可能发生变化。以上仅为推测, 具体原因还有待进一步探讨。

## 3 结 论

在柠檬酸缓冲溶液( $\text{pH} 5.92, 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )中, 对磺酸基杯[4]芳烃与吡啶形成了 1:1 的主客体超分子包合物。可能的包结模式为吡啶侧着部分进入对磺酸基杯[4]芳烃的空腔中, 二者借助于静电作用、范德瓦耳斯力、疏水作用等弱相互作用力形成稳定的超分子包合物。其中, 静电作用是主要的驱动力, 包结过程主要是焓变驱动的。由不同温度下的包结稳定常数的值可看出, 温度较低时二者间的包结更牢固。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] XIE Wei lei, XU Wei he, FENG Guang zhu(谢文磊, 徐卫河, 冯光柱). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2001, 21(5): 707.
- [ 2 ] TANG Jian, ZHUO Yi rong, WANG Wei na, et al(唐 健, 卓仪荣, 王温娜, 等). Chinese Journal of Hospital Pharmacy(中国医院药学杂志), 2004, 24(6) : 330.
- [ 3 ] WEI Yar li, DONG Chuan(卫艳丽, 董 川). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(7): 862.
- [ 4 ] Huekam a K. J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem., 2002, 44: 3.
- [ 5 ] Bøhmer V. Angewandte Chem. International Edition in English, 1995, 34(7): 713.
- [ 6 ] Shikai S, Araki K, Matsuda T, et al. J. Am. Soc. Chem., 1990, 112(25): 9053.
- [ 7 ] Arena G, Gentile S, Gulino F G, et al. Tetrahedron. Lett., 2004, 45: 7091.
- [ 8 ] Shinkai S, Mori S, Koreishi H, et al. J. Am. Soc. Chem., 1986, 108(9): 2409.
- [ 9 ] Liu Y, Han B H, Chen Y T. J. Org. Chem., 2000, 65(19): 6227.
- [ 10 ] Arena G, Contino A, Gulino F G, et al. Tetrahedron. Lett., 2000, 41: 9327.
- [ 11 ] Jin T. J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem., 2003, 45: 195.
- [ 12 ] Gansey M H B G, De Haan A S, Bos E S, et al Bioconj. Chem., 1999, 10: 613.
- [ 13 ] Silva E D, Shahgaldian P, Coleman A W. Int. J. Pharm., 2004, 273: 57.
- [ 14 ] Tanner D. Pure Appl. Chem., 1993, 65: 1319.
- [ 15 ] CHEN Yang, LU Zir hong(陈 扬, 陆祖宏). Chemistry Bulletin(化学通报), 2001, 64(9): 537.
- [ 16 ] YIN Dong guang, HE Your ping, LIU Yi bing, et al(尹东光, 贺佑平, 刘一兵, 等). Chinese J. Anal. Chem.(分析化学), 2004, 32(7): 893.
- [ 17 ] Gutsche C D, Iqbal M. Org. Synth., 1990, 68: 234.
- [ 18 ] Gutsche C D, Lin L G. Tetrahedron, 1986, 42: 1633.
- [ 19 ] Atwood J L, Orr G W, Means N C. Inorg. Chem., 1992, 31: 603.
- [ 20 ] Yang J, Huang F, Wang M, et al. Spectrochi. Acta Part A, 2002, 58: 1775.
- [ 21 ] Li J F, Wei Y X, Ding L H, et al. Spectrochi. Acta Part A, 2003, 59: 2759.
- [ 22 ] Shinkai S, Araki K, Manabe O. J. Am. Chem. Soc., 1988, 110: 7214.

## Study on the Inclusion Behavior of *p*- Sulphonatocalix[4] arene with Acridine by Spectrofluorometric Titrations

ZHOU Yur you, LU Qin, LIU Chun, SHE Shi ke, YANG Xir lai, WANG Lun

Anhui Key Laboratory of Funtional M olecular Solids, Institute of Analytical Science, College of Chemistry and Materials Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

**Abstract** *p*-sulphonatocalix[4] arene(1) was prepared according to the literature, and spectrofluorometric titrations were performed to investigate the inclusion behavior of (1) and acridine in citrate buffer solution (pH 5.92, 0.1 mol·L<sup>-1</sup>) at different temperatures. It was found that in definite concentration range, the emission peak of acridine exhibited a slight red shift and the fluorescence intensity decreased when (1) was added. They form stable host-guest complex, and the stoichiometry of the inclusion complex is 1:1. The stability constants of the inclusion complex at 15.0 °C, 20.0, 25.0 and 30.0 °C were determined as 3.08×10<sup>5</sup>, 4.45×10<sup>4</sup>, 2.58×10<sup>4</sup> and 8.90×10<sup>3</sup>, respectively. The thermodynamic parameters of inclusion process, Δ*G*, Δ*H* and Δ*S*, were determined. The experimental results indicated that the inclusion process was an exothermic and enthalpy-driven process. It was found that the stability constants descended when temperature rose. The most probable pattern of the inclusion complex between (1) and acridine was proposed as: acridine partially goes into the cavity of (1), and the protonated N atom and the negatively charged sulphonyl group bond firmly owing to strong electrostatic interaction. With the main contribution of electrostatic interaction and the assistance of Van der Waals and hydrophobic interaction, the host and the guest molecules form 1:1 supramolecular complex.

**Keywords** *p*-sulphonatocalix[4] arene; Acridine; Spectrofluorometric titration; Stability constants of complexation; Electrostatic interaction

(Received Aug. 22, 2005; accepted Nov. 28, 2005)