

# 羟自由基与水杨酸反应机理的初探

冯慧萍 李亦聪

(广东药学院分析化学教研室 广州市大学城外环东路 280 号 510006)

**摘 要** 探讨羟自由基与水杨酸的反应动力学过程。水杨酸与 Fenton 反应产生的羟自由基反应, 采用紫外-可见分光光度法(UV)和质谱法(MS), 考察反应物的浓度、反应时间、反应温度、溶剂 pH 值等对反应产物的浓度以及反应速率的影响。水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  反应生成的紫色产物在波长 530nm 处有最大 UV 吸收峰, 但仅于 pH= 4.51 的缓冲溶液和水中吸收峰; 且该产物的吸光度值, 随着反应物浓度的增加而增加; 随反应时间的延长而减少; 随着反应温度的升高而减少。反应速率  $t=5\text{s}$  达到最大值, 其后随着反应时间的延长而逐渐降低, 1min 时达到平衡。通过 MS 分析, 可得到质荷比 ( $m/z$ ) = 153, 248, 249, 288, 289, 304, 328, 329, 344, 345 的离子峰。推测羟自由基与水杨酸反应的中间产物是紫色的大分子自由基, 而最终产物为二羟基苯甲酸, 该反应可能是加成反应和聚合反应同时进行。

**关键词** 水杨酸; 羟自由基; 反应动力学

中图分类号: O 657. 32; O 657. 63 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2009)04-0931-08

## 1 前言

当人体内羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )的产生与清除失去平衡后,  $\cdot\text{OH}$  可氧化生物体内 DNA、蛋白质、糖类、脂膜等生物大分子, 造成机体损伤, 引起脑缺血、帕金森氏症、风湿性关节炎、呼吸窘迫综合症、心血管疾病和癌症等疾病<sup>[1]</sup>。

自由基对生物分子进行攻击的过程中, 主要发生氢抽提反应、电子转移反应、加成反应、终止反应及歧化反应等 5 种基本的自由基反应。但是, 此系列自由基反应的动力学过程不甚明确, 因此, 对其反应动力学的研究具有重要的意义。

$\text{Fe}^{2+}$  可以与过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 反应产生羟基自由基, 此反应被称为 Fenton 反应。Fenton 反应是生物体内产生  $\cdot\text{OH}$  的主要反应<sup>[2]</sup>。



但是  $\cdot\text{OH}$  的化学反应活性强、存在寿命短, 故直接检测其含量极其困难。一般情况下, 常在反应体系中加入自由基捕集剂, 与  $\cdot\text{OH}$  反应生成较稳定的加合物, 通过检测加合物进行定性或定量研究。目前, 离体检测羟自由基方法有电子自旋共振法、化学发光法、HPLC 法、荧光法、电化学法等<sup>[5-7]</sup>。

本实验利用  $\cdot\text{OH}$  能选择性地攻击水杨酸, 产生二羟基苯甲酸应用紫外可见分光光度法和质谱法, 对反应中间产物及产物进行定性和定量的检测, 从而考察水杨酸的浓度、 $\text{Fe}^{2+}$  的浓度、 $\text{H}_2\text{O}_2$  的浓度、反应时间、反应温度和溶剂 pH 值这些因素, 对反应产物的浓度和反应速率的影响; 同时应

联系人, 电话: (020)39352135; 手机: (0)13138663319; E-mail huipingf@126.com

作者简介: 冯慧萍(1968—), 女, 湖北省钟祥市人, 博士, 主要从事自由基与生物大分子作用机理及应用的研究。

收稿日期: 2009-01-16; 接受日期: 2009-04-04

用质谱法对生成的中间产物进行了分子量和分子式的推测。通过以上分析,初步估计羟自由基与水杨酸的反应既有自由基的加成反应,又有自由基的聚合反应。

## 2 实验部分

### 2.1 试剂

水杨酸、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  均由天津试剂厂生产,为分析纯试剂;所用缓冲溶液为:石酸氢钾缓冲溶液(pH 3.26)、醋酸-醋酸钠缓冲溶液(pH 4.51)、氢氧化钠-磷酸二氢钾缓冲溶液(pH 5.8)、混合磷酸盐缓冲溶液(pH 6.86)、磷酸盐缓冲溶液(pH 7.8)、氯化铵-浓氨水缓冲溶液(pH 8.58)、硼砂缓冲溶液(pH 9.13);按照中国药典 2005 版配制<sup>[4,5]</sup>。实验用水为蒸馏水。

### 2.2 仪器

pHS-25 数显酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司);UV 1101 紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司);BL-220H 电子天平(日本岛津公司)、电炉、100 温度计;Q-ToF micro 四极杆-飞行时间串联质谱仪(美国 Waters 公司)。

### 2.3 反应物的配制

#### 2.3.1 水杨酸溶液的配制

称取 0.3450g 水杨酸,置于小烧杯中,加入水约 30mL,在水浴中加热,搅拌溶解,转移至 250mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,配制成  $1.000 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  的水杨酸溶液 250mL。

分别配制  $2.000 \times 10^{-4}$ 、 $1.000 \times 10^{-3}$ 、 $2.000 \times 10^{-3}$ 、 $4.000 \times 10^{-3}$ 、 $6.000 \times 10^{-3}$ 、 $8.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  水杨酸溶液。

#### 2.3.2 $\text{Fe}^{2+}$ 溶液的配制

称取 0.6951g 硫酸亚铁( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ),置于小烧杯中,加入水约 30mL,搅拌溶解,转移至 250mL 的容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,配制成  $1.000 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液。

分别配制  $1.500 \times 10^{-3}$ 、 $3.000 \times 10^{-3}$ 、 $6.000 \times 10^{-3}$ 、 $1.200 \times 10^{-2}$ 、 $1.800 \times 10^{-2}$ 、 $2.400 \times 10^{-2}$ 、 $3.000 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液。

#### 2.3.3 过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )溶液的配制

配制 1mol/L 过氧化氢溶液 100mL:准确吸取 30% 的过氧化氢溶液 3.06mL,置于 100mL 的容量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,即可。

分别配制  $1.000 \times 10^{-1}$ 、 $1.000 \times 10^{-2}$ 、 $1.000 \times 10^{-3}$ 、 $1.000 \times 10^{-4}$ 、 $1.000 \times 10^{-5}$ 、 $1.000 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  过氧化氢溶液 50mL。

分别配制  $2.000 \times 10^{-4}$ 、 $2.000 \times 10^{-3}$ 、 $4.000 \times 10^{-3}$ 、 $6.000 \times 10^{-3}$ 、 $8.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  过氧化氢溶液各 25mL。

### 2.4 中间产物最大吸收波长的确定

依次准确吸取  $1.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的水杨酸溶液、 $1.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液和  $1.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  过氧化氢溶液各 2mL,置于 10mL 容量瓶中,溶液颜色变为紫色,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,于 700.0—200.0nm 处进行 UV 图谱扫描。

准确吸取  $1.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的水杨酸溶液 2mL,置于 10mL 容量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,于 700.0—200.0nm 处进行 UV 图谱扫描。如图 1。

由图 1 可知,水杨酸的 UV 图谱有一个吸收峰  $\lambda_{\text{max}} = 278\text{nm}$ ,水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  反应的紫色产物

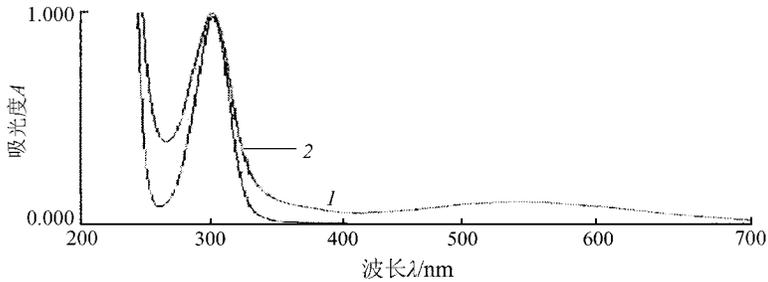


图 1 水杨酸及反应中间产物紫外-可见光谱图

1——水杨酸的UV; 2——水杨酸与·OH反应中间产物的UV。

的UV图谱有二个吸收峰, 为 $\lambda_{\max} = 278\text{nm}$ ,  $\lambda_{\max} = 530\text{nm}$ 。可见产物新增 $\lambda = 530\text{nm}$ 处的吸收峰, 以此波长处产物的吸光度值可间接测量Fenton反应产生·OH的量。

### 2.5 质谱条件

喷雾电压: 2000V; 锥体电压: 25V; 源温: 80 ; 离子传输管温度: 200 ; 碰撞能量: 5V, 流速 1.0  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

样品的配制: 依次准确移取  $6.000 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  的水杨酸溶液 0.5mL、 $6.000 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液 0.50mL 和  $6.000 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 0.50mL 于 10mL 的容量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 过滤。

## 3 结果

### 3.1 反应物浓度的影响

#### 3.1.1 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度的影响

在带盖的石英比色皿中, 加入  $3.000 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  的水杨酸溶液 1.00mL、 $3.000 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液 1.00mL, 再平行加入 1.00mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液, 浓度分别为  $1.500 \times 10^{-3}$ 、 $3.000 \times 10^{-3}$ 、 $6.000 \times 10^{-3}$ 、 $1.200 \times 10^{-2}$ 、 $1.800 \times 10^{-2}$ 、 $2.400 \times 10^{-2}$ 、 $3.000 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ , 摇匀, 20s 后, 于 530nm 波长处分别测定上述 7 种反应溶液的吸光度值, 结果见表 1。

表 1 不同浓度的  $\text{H}_2\text{O}_2$  对反应产物吸光度值的影响

$\text{H}_2\text{O}_2$ 的浓度 ( $\text{mol/L}$ )	$A_{530\text{nm}}$	$\text{H}_2\text{O}_2$ 的浓度 ( $\text{mol/L}$ )	$A_{530\text{nm}}$
$5.000 \times 10^{-4}$	0.178	$6.000 \times 10^{-3}$	0.345
$1.000 \times 10^{-3}$	0.193	$8.000 \times 10^{-3}$	0.348
$2.000 \times 10^{-3}$	0.278	$1.000 \times 10^{-2}$	0.351
$4.000 \times 10^{-3}$	0.340		

#### 3.1.2 $\text{Fe}^{2+}$ 浓度的影响

在带盖的石英比色皿中, 加入  $3.000 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  的水杨酸溶液 1.00mL、1.00mL  $\text{Fe}^{2+}$  溶液浓度分别为  $1.500 \times 10^{-3}$ 、 $3.000 \times 10^{-3}$ 、 $6.000 \times 10^{-3}$ 、 $1.200 \times 10^{-2}$ 、 $1.800 \times 10^{-2}$ 、 $2.400 \times 10^{-2}$ 、 $3.000 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ , 再加入  $1.200 \times 10^{-2} \text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 1.00mL, 摇匀, 20s 后, 于 530nm 波长处分别测定上述 7 种反应液的吸光度值, 结果见表 2。

#### 3.1.3 水杨酸的浓度的影响

在带盖的石英比色皿中, 分别平行移取  $3.000 \times 10^{-3}$ 、 $6.000 \times 10^{-3}$ 、 $1.200 \times 10^{-2}$ 、 $1.800 \times 10^{-2}$ 、 $2.400 \times 10^{-2}$ 、 $3.000 \times 10^{-2} \text{mol/L}$  的水杨酸溶液 1.00mL, 分别依次加入  $4 \times 10^{-3}$

mol/L 的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液 1mL 和  $3 \times 10^{-3}$  mol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 1mL, 摇匀, 20s 后, 于 530nm 波长处分别测定上述 6 种反应溶液的吸光度值, 其结果见表 3。

表 2 不同浓度的  $\text{Fe}^{2+}$  对反应产物吸光度值的影响

$\text{Fe}^{2+}$ 的浓度(mol/L)	$A_{530\text{nm}}$	$\text{H}_2\text{O}_2$ 的浓度(mol/L)	$A_{530\text{nm}}$
$5.000 \times 10^{-4}$	0.143	$6.000 \times 10^{-3}$	0.204
$1.000 \times 10^{-3}$	0.144	$8.000 \times 10^{-3}$	0.208
$2.000 \times 10^{-3}$	0.168	$1.000 \times 10^{-2}$	0.210
$4.000 \times 10^{-3}$	0.193		

表 3 不同浓度的水杨酸反应后所生成的产物的吸光度

浓度(mol/L)	$A_{530\text{nm}}$	浓度(mol/L)	$A_{530\text{nm}}$
$1.000 \times 10^{-3}$	0.143	$6.000 \times 10^{-3}$	0.174
$2.000 \times 10^{-3}$	0.157	$8.000 \times 10^{-3}$	0.169
$4.000 \times 10^{-3}$	0.167	$1.000 \times 10^{-2}$	0.170

### 3.2 溶剂 pH 对反应中间产物的影响

分别依次移取  $6 \times 10^{-3}$  mol/L 的水杨酸溶液 2mL、 $6 \times 10^{-3}$  mol/L 的  $\text{Fe}^{2+}$  溶液 2mL 和  $6 \times 10^{-3}$  mol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 2mL, 置于 8 个 10mL 的容量瓶中, 用溶剂 pH 分别为 9.13, 8.58, 7.80, 6.86, 5.80, 4.51, 3.26 的缓冲溶液和水 (pH = 6.38) 稀释至刻度, 摇匀, 于 5min 内在 700.0—200.0nm 处进行图谱扫描, 得到上述 8 种不同溶剂中反应产物的紫外-可见吸收光谱图 (图 2)。

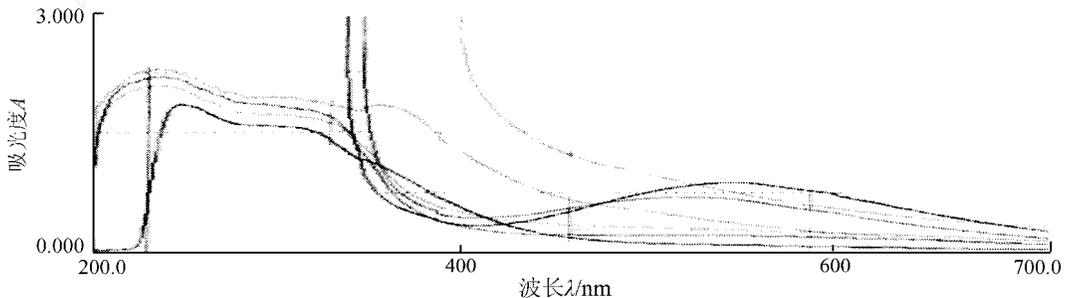


图 2 不同 pH 溶剂中反应产物的紫外-可见吸收光谱图

8 条曲线所在的溶剂以 530nm 处吸光度值从大到小依次为水, pH = 8.58, 4.51, 9.13, 6.86, 5.80, 7.80, 3.26。

此外, 分别移取  $6.000 \times 10^{-3}$  mol/L 的水杨酸溶液 2.00mL, 于 7 个 10mL 的容量瓶中, 用不同 pH 的溶剂稀释至刻度, 摇匀, 并于 5min 内在 700.0—200.0nm 处进行图谱扫描, 水杨酸的紫外-可见吸收光谱图无变化。由图 2 可知, 反应产物的紫外-可见吸收, 在 pH 3—9 的范围内, 只有在溶剂为水 (pH = 6.38) 及溶剂 pH = 4.51 中, 于 530nm 处出现吸收峰, 而在其他 pH 值的溶剂中, 产物均无吸收峰或吸收较弱。

### 3.3 反应时间的影响

在带盖的石英比色皿中, 分别按表 4 配制 3 个不同浓度的样品, 摇匀, 于 530nm 波长处定量测定其吸光度值, 测定时间共 3h。其中, 前 5min 间隔 1s 测一次; 从第 5min 开始, 到第 20min 间隔 1min 测一次; 从第 20min 开始, 到第 30min 间隔 5min 测一次; 从第 30min 开始, 到最后间隔 15min 测一次。3 个样品的时间-吸光度曲线如图 3 所示。

表 4 不同浓度的样品配制

样品	水杨酸溶液	Fe <sup>2+</sup> 溶液	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 溶液	用量
1	1 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	1 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	1 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	依次分别吸取 1mL
2	2 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	2 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	2 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	
3	4 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	4 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	4 × 10 <sup>-3</sup> mol/L	

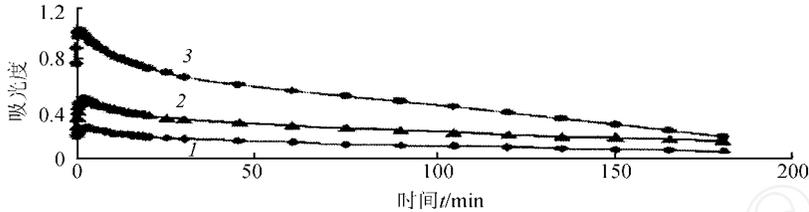


图 3 不同浓度的反应产物的吸光度值-时间曲线图

由于  $A = E \cdot C \cdot l$ , 吸光度  $A$  与浓度  $C$  成正比, 根据产物  $A$  的变化分别求 3 个浓度样品的反应速率 ( $v$ ), 绘制反应 1m in 的反应速率曲线见图 4。



图 4 不同浓度的产物的反应速率-时间曲线图

由图 4 可知, 于 530nm 处的吸光度值, 随着反应时间的延长, 先增加后逐渐降低, 反应开始 1m in 内的变化较大, 此后续缓慢降低。由图 4 可知, 反应开始时, 该反应的  $v$  逐渐增加,  $t_{max} = 5s$  时达到最大速率, 3 个浓度样品的反应速率分别为:  $v_{max1} = 2.181$ ,  $v_{max2} = 3.145$ ,  $v_{max3} = 9.048$ , 然后反应速率均逐渐降低,  $t = 36s$  时  $v$  不再增加。

### 3.4 反应温度的影响

在带盖的石英比色皿中, 依次移取  $6.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的水杨酸溶液 1mL,  $6.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的 Fe<sup>2+</sup> 溶液 1.00mL 和  $6 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 1.00mL, 在不同温度的水浴中反应 20s 后, 在 530nm 处测量反应液的吸光度值如表 5 所示。

在实验过程中, 随着反应温度的升高, 水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  反应后所生成的紫色中间产物的颜色发生改变, 都可以明显的观察到, 除了 85 反应的样品外, 其他样品都由深紫色 紫色 浅紫色; 而 85 反应的样品, 则由深紫色 紫褐色 淡茶色。而且颜色改变的速度随着温度的上升而加快。

表 5 不同反应温度下的吸光度值

温度( )	85	75	65	55	45	35	25
$A_{530nm}$	0.260	0.403	0.407	0.567	0.647	0.794	0.853

### 3.5 质谱

样品反应 5m in 和 30h 后分别进样检测。得到质谱图 5、6。将原始质谱图数据归纳得到反应液的部分质谱表(表 6)。比较两个反应时间质谱图中各离子峰的相对丰度, 随着反应时间的延长,  $m/z = 153.0$  的离子峰相对丰度由 58.0 增加到 100.0, 而  $m/z = 247.8$ 、 $287.9$ 、 $328.0$  三个离子峰

的相对丰度都减小,尤其  $m/z = 287.9$  的由 100.0 降低到 16.0,同时三者之间的比例也发生了改变,5m in 时,  $m/z = 287.9$  为最强峰,30h 时,  $m/z = 328.0$  为最强峰。

表 6 反应液的质谱表

相对强度 (%)	$m/z$						
	153.0	247.8	248.8	287.9	288.9	328.0	329.0
5m in	58.0	30.0	9.0	100.0	23.0	66.0	15.0
30h	100.0	3.0	7.0	16.0	17.0	25.0	14.0

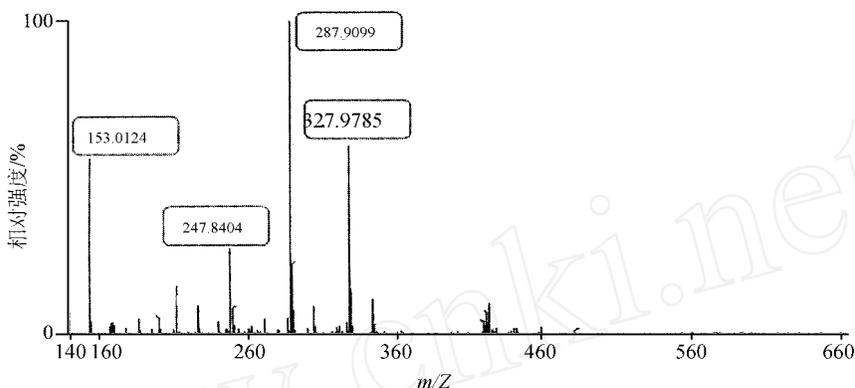


图 5 反应 5m in 的质谱图

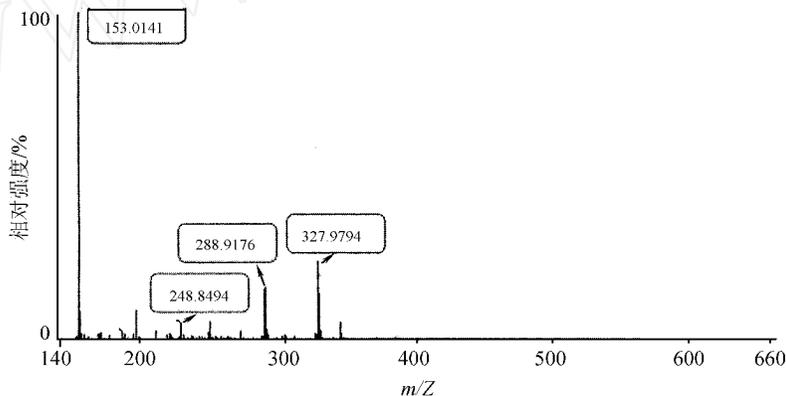


图 6 反应 30h 的质谱图

## 4 讨论

### 4.1 反应物浓度的影响分析

当反应液中  $H_2O_2$  溶液的浓度在  $5 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  的范围内变化时,水杨酸与  $\cdot OH$  反应后所生成的产物的浓度,随着  $H_2O_2$  溶液的浓度的增加而增加,但当所加  $H_2O_2$  溶液的浓度达到  $4.000 \times 10^{-3}$  时,产物的吸光度值无明显变化,说明 Fenton 反应产生的  $\cdot OH$  的量随  $H_2O_2$  浓度的增加而增加,直到  $Fe^{2+}$  完全反应。

$Fe^{2+}$  作为反应的催化剂,随着  $Fe^{2+}$  溶液的浓度的增加而增加,但当  $Fe^{2+}$  溶液的浓度达到  $6.000 \times 10^{-3}$  时,产物的吸光度值不再增加,说明 Fenton 反应产生  $\cdot OH$  的量随  $Fe^{2+}$  浓度的增加而增加,直到  $Fe^{2+}$  与  $H_2O_2$  物质质量的比例略大于 1。

随着水杨酸浓度的增加,中间产物在 530nm 处的吸收值无明显的变化,说明  $1.000 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  水杨酸过量,  $\cdot OH$  完全反应,此反应中各反应物的比例关系

水杨酸  $\text{Fe}^{2+}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  并非 1 : 1 : 1, 水杨酸的量略小于 1。可能因  $\cdot\text{OH}$  寿命短, 水杨酸捕获效率低于 100% 所致。

#### 4.2 反应时间的影响分析

由 2.2.5 可知, 反应产物于波长 530nm 处的吸光度值随着时间的延长先增加后逐渐降低。在反应开始后 1min 内的变化较大,  $t_{\text{max}} = 5\text{s}$  时, 该反应的反应速率已经上升到最高点。反应物浓度的增加对反应速率也有影响, 随着反应物浓度的增加, 反应速率明显增加, 且上升幅度明显加大, 但反应速率的达峰时间仍然是 5s。5s 后  $v$  逐渐降低,  $t = 36\text{s}$  时,  $v$  趋近于零, 反应达到平衡, 紫色产物的  $A$  值缓慢下降, 同时产物的颜色也随着时间的延长而逐渐变浅。因此, 推测该产物不稳定, 是反应的中间产物。

造成反应 1min 内变化较大的主要原因是由于反应开始后,  $\text{H}_2\text{O}_2$  在  $\text{Fe}^{2+}$  的催化作用下迅速分解, 使  $\cdot\text{OH}$  浓度也快速增加且迅速与底物水杨酸反应, 从而使反应速率快速上升。而中间产物浓度逐渐稳定的主要原因可能来自于水杨酸浓度的减小, 使  $\cdot\text{OH}$  与其结合的几率相应减小; 另外,  $\cdot\text{OH}$  以其强氧化特性进一步氧化中间物, 使中间产物和底物的浓度都在不断下降, 当中间产物的产生速率低于其被氧化的速率时, 中间产物的浓度就逐渐趋于稳定<sup>[8]</sup>。这一特征与链反应中的支链反应的特征相似, 都是一个瞬时的快速反应。

#### 4.3 反应温度的影响分析

在实验过程中, 随着反应温度的升高, 水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  反应后所生成的紫色化合物的颜色发生明显的改变, 由无色 紫色 深紫色 浅紫色, 而且颜色改变的速度随着温度的上升而加快。更加证实紫色产物只是中间体, 不是最终的产物。

这可能因为温度的增加, 分解速率上升, 分解过程中产生的  $\cdot\text{OH}$  的量明显增加。同时, 温度的升高使溶液中的分子扩散作用增强, 从而使水杨酸能够更为有效地同  $\cdot\text{OH}$  作用。

#### 4.4 溶剂 pH 对反应中间产物的影响分析

从实验结果可知, 当溶剂在 pH3—9 的范围内, 水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  反应后所生成的紫色中间产物只有在溶剂为水及溶剂 pH 为 4.51 时, 才于 530nm 处出现吸收峰(图 2), 这说明, 该化合物在水 ( $\text{pH} = 6.38$ ) 和  $\text{pH} = 4.51$  的溶剂里比较稳定, 随着 pH 的增加, 吸收蓝移。至于其原因, 有待进一步研究。

#### 4.5 质谱分析

通过对图谱(图 5.6)的分析, 估计 247.8、287.9、328.0 这三个峰就是水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  反应后所生成的紫色中间产物。首先, 247.8404、287.9099、327.9785 这三个峰的峰值都为偶数, 这与质谱的规律有所不相符, 因此, 推测三个峰均是含 2 个苯环共轭的大分子自由基, 其分子式可能为:  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_6$  ( $M = 248$ )、 $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_7$  ( $M = 288$ )、 $\text{C}_{16}\text{H}_8\text{O}_8$  ( $M = 328$ ), 它们之间相差了 40, 可能是  $\text{C}_2\text{O}$  的聚合单体; 其次, 分别与这三个峰相邻的 248.8479、288.9144、328.9832 这三个峰与前面所说的三个峰均相差了 1, 也就是一个氢, 所以, 248.8479、288.9144、328.9832 这三个峰可能是分子峰, 也可能是双自由基, 这有待以后进一步研究分析确定。287.9099 这个峰与 303.9061 相差了 16, 也就是一个氧, 同样, 327.9785 与 343.9747 也相差了 16。153.0124 这个峰由始至终都出现着, 并且反应时间越长其含量增加, 可能是水杨酸与  $\cdot\text{OH}$  的加成产物二羟基苯甲酸  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$  ( $M = 153$ )。

比较图 5 与图 6, 我们可以看出, 随着反应时间的逐渐延长, 反应产物中, 各种自由基的含量发生了改变, 有部分转变为较稳定的化合物, 以加氢后的分子状态存在, 分子与自由基处在一个动态

的平衡之中。30h 后,最终的产物可能只有二羟基苯甲酸,紫色大分子的自由基都逐渐消失。

## 参考文献

- [1] 杨芬,张瑞萍,贺玖明 羟自由基的产生、捕集及检测方法[J]. 药学报, 2007, 42(7): 692—697.
- [2] 于怀东,项念,杨扬 锰离子对 Fenton 反应的影响[J]. 武汉大学学报(理学版), 2006, 52(4): 453—457.
- [3] 刘海 试述自由基及抗自由基中药[J]. 实用中医药杂志, 2007, 235(5): 327—329.
- [4] 国家药典委员会 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005 附录 V H 41.
- [5] 国家药典委员会 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005 附录 XV D 157—158.
- [6] 吴迪,刘森,董德明 影响羟基自由基在 $O_3/UV$  体系中生成规律的因素[J]. 吉林大学学报(地球科学版), 2007, 37(1): 148—152.
- [7] 杨威,邓玉林 HPLC-ECD 检测羟自由基方法的研究[J]. 分析实验室, 2007, 26(9): 120—122.
- [8] 方茹,于怀东,伍林 芳环羟基化荧光法检测类 Fenton 反应产生的  $\cdot OH$  [J]. 武汉大学学报(理学版), 2005, 51(4): 501—505.

## Investigation on Reaction Kinetics of Salicylic Acid and Hydroxyl Radical

FENG Hui-Ping LI Yi-Cong

(Department of Analytical Chemistry, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, P. R. China)

**Abstract** The reaction dynamics of hydroxyl radical and salicylic acid was explored. Hydroxyl radical was produced by fenton reaction. The impact dynamics factors of this reaction were studied by ultraviolet and visible spectrophotometry (UV) and mass spectrometry (MS), such as the reaction of concentration, reaction time, temperature, the pH of solvents. The purple intermediate product was generated by the reaction of salicylic acid and  $\cdot OH$ . The UV  $\lambda_{max} = 530nm$  was measured just in distilled water and pH = 4.51 buffer solution. The concentration of the intermediate product was increased with increased concentration of reaction, Reduced with extension of reaction time, Reduced with rose temperature. In addition, the reaction rate reached maximum at  $t = 5s$ , then gradually reduced, it reached balance at  $t = 1min$ . Mass spectra of ion  $m/Z = 153, 248, 249, 288, 289, 304, 328, 329, 344, 345$  was generated. Based on the reaction kinetics study of hydroxyl radical and salicylic acid, it estimated that the purple intermediate products were free radicals of weight molecular, the reaction could be addition and polymerization reaction.

**Key words** Salicylic Acid; Hydroxyl Radical; Reaction Kinetics

### 本刊可上网查阅

由于本刊在 2001—2009 年被《中国核心期刊(遴选)数据库》收录,全文上网,因此,读者、作者均可直接上网查阅。网址:

<http://www.periodicals.net.cn>

<http://www.wanfangdata.com.cn>

<http://gpsys.periodicals.net.cn>

<http://gpss.chinajournal.net.cn>