

pH 值对 3-羟基-2-萘甲酸荧光性质及其 β-环糊精包结物生成常数的影响

0625.5/2
0636.12易争平 赵长春[✓] 陈慧兰* 于俊生

(南京大学化学系, 配位化学国家重点实验室, 南京 210093)

研究了不同 pH 值 3-羟基-2-萘甲酸的荧光性质, 并用荧光双倒数法测定了 3-羟基-2-萘甲酸与 β-环糊精包结物在不同 pH 值的生成常数, 结果表明疏水作用和氢键对包结物的形成起重要作用。

关键词: β-环糊精 荧光 包结物 生成常数

萘甲酸

超分子化学

0 前言

超分子化学正处于化学领域的前沿^[1]。环糊精作为重要的超分子主体受到人们越来越多的重视^[2]。环糊精(简称 CD)是 α-(1,4)-糖苷键相结合的环状低聚糖, 通常含有 6、7、8 个 D-吡喃葡萄糖单元, 分别称为 α、β、γ-环糊精。其疏水性空腔可以容纳多种无机和有机小分子形成包结物, 包结物的形成是通过疏水作用、范德华力、空间匹配效应、释放高能水以及氢键等弱相互作用。客体分子被包结后, 由于微环境变化, 其物理、化学、生物性质发生明显变化, 如溶解性、紫外可见、荧光、核磁等, 因而环糊精在医学、分析、食品等领域具有广泛的应用^[2,3]。

3-羟基-2-萘甲酸(简称 3H2NA)是一种具有分子内氢键的荧光物质^[4], 虽然它作为客体分子能与环糊精包结^[5], 但系统地研究 pH 值对 3H2NA 与 β-CD 包结物生成常数的影响尚未见报道, 本工作利用 3H2NA 加 β-环糊精(CD)后荧光的变化, 用双倒数法测定了不同 pH 值下 3H2NA 与 β-CD 包结物的生成常数, 旨在研究疏水作用和分子内及分子间氢键对包结物形成和稳定性的影响。

1 实验部分

实验药品: β-CD 购自南京发酵所, 重结晶三次, 真空恒温(80℃)干燥 48 小时。3-羟基-2-萘甲酸为 Aldrich 产品, 用乙醇重结晶两次。浓盐酸、氢氧化钠、氢氧化钾、氯化钠、氯化钾为上海试剂一厂 A. R. 产品。邻苯二甲酸氢钾、硼砂为上海爱建现成试剂厂 A. R. 产品。实验用水为二次水。

实验仪器: Perkin Elemer LS50B 荧光仪, 雷磁 25 型 pH 计, PXT-1B 数字式离子计。

收稿日期: 1996-10-07, 收修改稿日期: 1996-12-16。

国家自然科学基金资助项目。

* 通讯联系人。

第一作者: 易争平, 男, 24 岁, 南京大学化学系硕士研究生, 研究方向: 超分子化学。

2 结果与讨论

2.1 pH 值对 3-羟基-2-萘甲酸荧光性质的影响

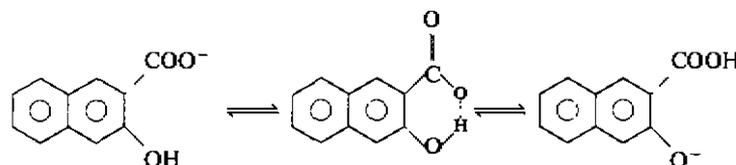
测定了不同 pH 时 3-羟基-2-萘甲酸(3H2NA)溶液的荧光性质,其荧光峰值 E_m 及荧光强度与浓度之比 $A=F/C$ 列于表 1。其水溶液浓度当 $\text{pH}<2$ 时约为 5×10^{-5} mol/L, $\text{pH}=2-12$ 时约为 3×10^{-5} mol/L, $\text{pH}>12$ 时约为 5×10^{-6} mol/L。

表 1 不同 pH 值时 3-羟基-2-萘甲酸(3H2NA)荧光峰值 E_m 及荧光强度与浓度之 $A=F/C$

Table 1 Fluorescence Maxima (E_m) and the Ratio of Fluorescence Intensity and Concentration ($A=F/C$) of 3-Hydroxy-2-Naphthoic Acid at Different pH Values

pH	0.7	1.7	2.7	2.9	3.0	4.0	6.0	7.0	10.1	10.8	11.1	11.8	12.3	13.1	13.3	13.5	13.7
$E_m(\text{nm})$	460	480	502	502	502	502	502	502	502	501	500	495	495	490	490	490	490
$A(\times 10^{-6} \text{ L/mol})$	0.06	0.16	0.48	0.66	0.72	1.09	1.08	1.09	1.10	1.13	1.20	2.45	3.29	14.0	15.1	16.2	17.2

当 $\text{pH}=0.7$ 时,3H2NA 主要以分子状态存在,荧光峰位于 460 nm,荧光非常弱,这是由于 H^+ 对萘酚的猝灭作用^[6]和羧基的吸电子性^[7]。随 pH 值的增大, H^+ 浓度减小,猝灭作用减弱,同时羧基电离,吸电子能力减弱,荧光逐渐增强。荧光峰移至 502 nm,荧光峰的红移表明在最低激发单重态寿命内 3H2NA 上的酚羟基和羧酸根通过分子内氢键发生质子交换,建立分子内的酸碱平衡^[4,7];



当 $\text{pH}=4-10$ 时由于 3H2NA 的羧基酸性较强($\text{p}K_{a1}=2.6$)^[4],稀溶液中基本完全电离,在 3×10^{-5} mol/L 3H2NA 溶液中,存在着上面的平衡和 3H2NA 与水分子形成分子间氢键的平衡,加入少量氢氧化钠后,荧光强度变化不大,说明钠离子取代氢离子,对 3H2NA 离子的上述平衡影响不大。继续加碱增大 pH 值, OH^- 浓度随之增大,氢氧根上氧原子电子云密度比羧酸根的氧原子电子云密度大,是更强的质子受体,容易与 3H2NA 上的酚羟基形成氢键,尽管分子内氢键和分子间氢键都使荧光强度减小,但分子内氢键使荧光减弱程度比分子间氢键大^[7],因此当氢氧根与 3H2NA 上的酚羟基形成氢键后,阻碍了分子内氢键的形成,荧光强度随之增大。当 pH 值接近 13 时,由于酚羟基电离($\text{p}K_{a2}=13$)^[4]和氢氧根的作用,分子内氢键减少很快,荧光强度几乎成直线增加,同时荧光峰移至 490 nm,这是 3H2NA 二价负离子的荧光峰^[4]。

2.2 pH 值对 3-羟基-2-萘甲酸 β -环糊精包结物生成常数的影响

在研究主客体化合物性质的荧光光谱法中,双倒数法^[4,9]是普遍采用的一种,当主体浓度远大于客体浓度时,其包结物生成常数表达式为:

$$(F-F_0)^{-1} = (\alpha[\text{guest}]_0 K [\beta\text{-CD}]^{-1})^{-1} + (\alpha[\text{guest}]_0)^{-1}$$

其中, $(F-F_0)$ 为加入环糊精后客体荧光强度的变化, $[\text{guest}]_0$ 为客体的浓度, α 为常数, K 为包结物生成常数。以 $(F-F_0)^{-1}$ 对 $[\beta\text{-CD}]^{-1}$ 作图,所得直线的截距除以斜率即为 K 。图 1 为 $\text{pH}=5.9$ 时 3H2NA 在 $\beta\text{-CD}$ 水溶液中的荧光光谱,图 2 为荧光双倒数图。从图 1 可以看出,加入

β -CD 后, 荧光强度增强, 这是因为^[10]: (1) 环糊精空腔改变荧光客体的微环境, 同时保护了荧光体不受外界猝灭剂的影响; (2) 由于包结作用, 分子内转动自由度受到阻碍, 溶剂分子的松弛减小; (3) 环糊精与 3H2NA 离子形成分子间氢键, 减少了分子内氢键的数目。从双倒数图获得一良好直线, 说明 3H2NA 与 β -CD 确实为 1:1 配合, 其包结物生成常数 $K=1080\pm 20$ (L/mol), 与文献值 ($K=1073\pm 1$ L/mol)^[5] 基本符合。不同 pH 下 3H2NA 与 β -CD 1:1 包结的 K 值列于表 2。

从表 2 可以看出, pH=0.7 时 K 值较大, 随 pH 值的增大, K 值减小, pH=4.0-10.0 时 K 值变化不大, 继续加入氢氧化钠, K 值又减小, 在 pH=10.8 附近达到最低值, 此后随 pH 值的增大又增大。用氢氧化钾调 pH 值时, 情况与此相似。

当 pH<0.7 时, 荧光太弱, 无法用荧光双倒数法求得 K 值。由于 H^+ 浓度过大, 会导致 3H2NA 的羧基和 β -CDS 醇羟基的质子化^[4], 增大它们的极性, 削弱疏水相互作用, 同时减弱生成分子间氢键的能力, 使包结作用减弱, K 值应该减小。

表 2 不同 pH 下 3H2NA 与 β -CD 包结物生成常数 K 值

Table 2 Formation Constants of 3H2NA with β -CD at Different pH Values

pH	0.7	1.7	2.7	4.0	5.9	7.0	8.5	10.0	10.5	10.8	11.3	11.5
K (L/mol)	1157 ± 88	2010 ± 40	1198 ± 50	1130 ± 19	1080 ± 20	1139 ± 8	1111 ± 18	1126 ± 20	895 ± 18	691 ± 6	1116 ± 22	1288 ± 20

* Using $1.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl (pH<5) and $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH (pH>5) adjust pH values.

在 pH=0.7 溶液中, 3H2NA 基本以分子状态存在, 极性小, 与 β -CD 疏水作用较强, 同时存在与 β -CD 生成的分子间氢键, 因此 K 值较大。随酸性减弱, 3H2NA 逐渐电离, 极性增大, 与 β -CD 疏水作用减弱, K 值减小。

当 pH=4.0-11.0 时, 3H2NA 一级电离几乎完全, 二级电离还没开始, 极性基本不变, 而加入少量氢氧化钠或氢氧化钾后, 只是由钠离子或钾离子取代氢离子, 对 3H2NA 一价负离子与 β -CD 生成分子间氢键的能力影响不大, 因此生成常数几乎不变。

随 pH 值的增大, 氢氧根增多, 氢氧根上氧原子电子云密度比 β -CD 醇羟基的电子云密度大, 是更强的质子受体, 更容易与 3H2NA 一价负离子的酚羟基形成氢键, 从而削弱了 3H2NA 离子与 β -CD 的氢键作用, 使 K 值减小, 在 pH=10.8 附近达到最低值。

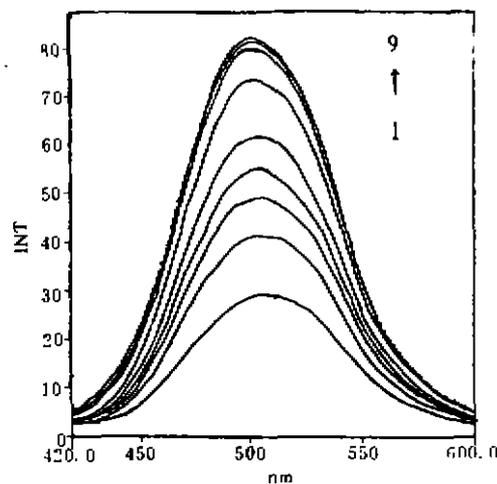


图 1 β -CD 水溶液中 3H2NA 的荧光光谱 (pH=5.9)

Fig. 1 Fluorescence spectra of 2.6×10^{-5} mol/L 3H2NA in β -CD, $E_x=350$ nm, β -CD concentrations: 1-0, 2-0.26, 3-0.48, 4-0.78, 5-1.3, 6-4.8, 7-6.5, 8-9.7, 9- 16×10^{-3} mol/L (pH=5.9)

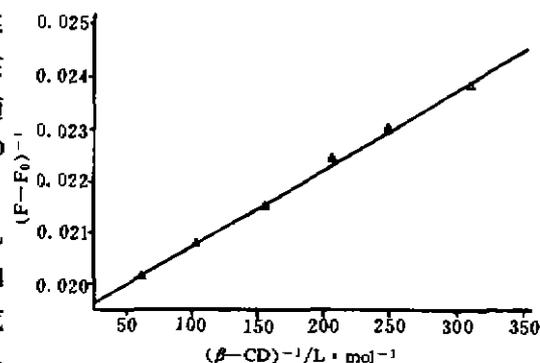


图 2 3H2NA/ β -CD 体系的荧光双倒数图

Fig. 2 $(F-F_0)^{-1}$ vs $[\beta\text{-CD}]^{-1}$ plot

当 $\text{pH} > 11$ 后, β -CD 醇羟基电离产生的烷氧根负离子增多 ($\text{p}K_{\text{a}} = 12.2$)^[10], 其氧原子电子云密度比水和羧酸根氧原子上的电子云密度大, 与 3H2NA 一价负离子的酚羟基形成氢键的能力强, 从而增强包结作用, 使 K 值增大。

但是, 随 pH 值进一步增大, 3H2NA 荧光强度增大很快, 特别是 $\text{pH} > 12$ 以后几乎成直线上升 (见表 1), pH 值小数点后第三位有微小差别都会引起荧光强度的较大变化, 此时由于 β -CD 醇羟基发生电离 ($\text{p}K_{\text{a}} = 12.2$)^[10], 溶液加 β -CD 后 pH 值很难调节到与原溶液一致, 因此更高 pH 值的 K 值测定有困难, 但不难预见, $\text{pH} > 12$ 后, 3H2NA 二价负离子 ($\text{p}K_{\text{a}_2} = 13$) 和 β -CD 电离出的烷氧根负离子增多, 由于阴离子的电荷排斥作用^[5], 会使包结作用减弱, K 值减小。

以上讨论的是 3H2NA 基态的情况, 当 3H2NA 处于第一激发单重态时, 尽管存在着分子内的酸碱平衡, 但对 3H2NA 离子的极性和它与 β -CD 的氢键作用影响不大, 因此对包结物生成常数无大的影响。

2.3 结论

上述结果表明, pH 值的变化影响了 3H2NA 电离平衡和分子内氢键, 从而影响 3H2NA 的荧光性质; 同时 pH 值的变化还会影响 3H2NA 的极性和 β -CD 醇羟基的电离平衡, 导致 3H2NA 与 β -CD 的疏水作用和氢键作用发生变化, 从而对包结物生成常数产生影响。

参 考 文 献

- [1] Lehn, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1988, 27(1), 89-112.
- [2] Gerhard Wenz *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1994, 33(8), 803-822.
- [3] Bender, M. L., Komiyama, M., *Cyclodextrin Chemistry*, Springer Verlag, N. Y., 1978.
- [4] Kovi, P. J.; Schulman, S. G. *Anal. Chem.*, 1973, 45(6), 989-991.
- [5] Koji Kano; Michihiro Tatsumi *J. Org. Chem.*, 1991, 56(23), 6579-6585.
- [6] Rosenberg, J. L.; Brinn, I. J. *J. Phys. Chem.*, 1972, 76(24), 3558-3562.
- [7] 陈国珍等, 荧光分析法, 北京: 科学出版社, 1990, 44-91.
- [8] F. Garcia Sanchez, M. Hernandez Lopez, et al. *Analyst.*, 1967, 112(7), 1037-1040.
- [9] Sanyo Hamai *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1982, 55(9), 2721-2729.
- [10] Song Li, William, C. Purdy *Chem. Rev.*, 1992, 92(6), 1457-1470.

EFFECT OF pH VALUES ON THE FLUORESCENCE OF 3-HYDROXY-2-NAPHTHOIC ACID AND THE FORMATION CONSTANTS OF ITS INCLUSION COMPLEX WITH β -CYCLODEXTRIN

Yi Zhengping Zhao Changchun Chen Huilan Yu Junsheng

(Department of Chemistry, State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093)

The effect of pH values on the fluorescence of 3-hydroxy-2-naphthoic acid were studied and the formation constants of its inclusion complex with β -CD were determined. Our results indicate that the hydrophobic interactions and hydrogen bonding play an important role in the formation of the inclusion complex.

Keywords: cyclodextrin fluorescence inclusion complex formation constant