

环糊精-苯丙氨酸超分子体系的包合现象与分子识别

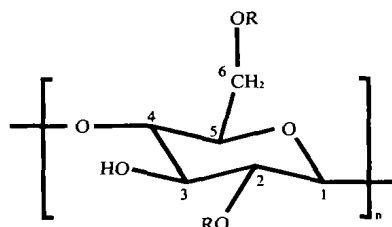
宋乐新^{1,2} 赵亮¹ 郭子建^{*,1}⁽¹⁾ 南京大学配位化学研究所, 配位化学国家重点实验室, 南京 210093)⁽²⁾ 中国科学技术大学化学系, 合肥 230026)

通过紫外-可见光谱探讨了水溶液中 α -环糊精(CD 1), β -CD 2, 七(2, 6-二-*o*-甲基)- β -CD 3 和 γ -CD 4 与 *D*-, *L*-, *D*-, *L*-苯丙氨酸(Phe)形成超分子包合物的稳定常数(K)。手性或外消旋苯丙氨酸与同一主体结合能力的强弱顺序为: $L > D$, $L > D$ -Phe, 各体系的 K_L/K_D 值在 1.65 ~ 3.01 之间, 给出了较好的异构体分离。但三种形式的苯丙氨酸与这些主体的缔合常数均较小($K < 3 \times 10^2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。就不同主体而言, K 值的次序为: $3 > 1 > 4 > 2$, 并不完全等同于 K_L/K_D 的顺序: $2 > 1 > 3 > 4$ 。

关键词: 环糊精 苯丙氨酸 包合物 分子识别
分类号: O657.61 O641.3

0 引言

环糊精(CDs, 图1)是一组环状低聚糖, 常见的主要有 α -, β - 和 γ -环糊精, 由于这些半天然产物分子内具有一定尺寸的空腔, 能与很多客体分子形成超分子包合物^[1-3]。有关水溶液中 CDs 对各类客体的包合行为研究已有很多文献报道^[4-6]。



- 1: R = H, $n = 6$, α -CD
2: R = H, $n = 7$, β -CD
3: R = CH₃, $n = 7$, 七(2, 6-二-*o*-甲基)- β -CD
4: R = H, $n = 8$, γ -CD

图1 环糊精(CDs)的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of cyclodextrins

氨基酸是一类十分重要的有机分子, CD-氨基酸超分子体系的包合现象与分子识别研究是环糊精化学的重要内容。刘育等^[7]曾报道单-[6-(1-吡啶)-6-脱氧]- α -和 γ -CD 与各种非芳香氨基酸的包合作用, 指出主、客体的尺寸或形状适合在超分子形成

与稳定过程中起关键作用。最近, 我们曾报道^[6,8]了一些低分子量多肽与氨基二酸桥联环糊精之间的相互作用, 讨论了主体桥联基团的结构效应以及客体分子链长、取代基的性质与位置等对主、客体包合反应的影响。为了进一步认识几种常见的、不同腔径的环糊精及其衍生物对手性特别是外消旋芳香氨基酸的包合现象与手性分子识别行为, 本文选择磷酸盐为缓冲溶液, 以 α -, β -, 七(2, 6-二-*o*-甲基)- β - 和 γ -CD(图1)作为主体, 以 *D*-, *L*-, *D*-, *L*-苯丙氨酸为客体, 通过紫外-可见光谱法探讨了主、客体之间的包合行为与异构体识别。

1 实验部分

α -, 七(2, 6-二-*o*-甲基)- β -, γ -环糊精为东京化成工业株式会社出品, β -环糊精为中国医药集团上海化学试剂公司出品。使用前从二次水中重结晶两次, 经 110℃ 真空干燥 24h 后, 存放于置有五氧化二磷的真空干燥器中。各种氨基酸生化试剂均为市购层析纯商品, 未经纯化直接使用。所用其它化学试剂均为市购分析纯商品, 所用溶剂均为去离子水。

吸收光谱由 Shimadzu UV-3100 紫外-可见分光光度计给出。在分光光度计上测量主体 1~4 键合客

收稿日期: 2002-05-20。收修改稿日期: 2002-07-04。

国家自然科学基金资助课题(No. 29925102)。

* 通讯联系人。E-mail: zgao@nju.edu.cn

第一作者: 宋乐新, 男, 38 岁, 博士, 副教授; 研究方向: 环糊精化学、配位化学、超分子化学。

体氨基酸形成超分子包合物的稳定常数 (K)。实验中固定客体浓度 ($5.00 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 数量级), 在紫外-可见分光光度计上确定客体化合物的最大吸收在 257nm, 选用的特定波长为 225 ~ 355nm, 依次增加环糊精及其衍生物的浓度, 将上述混合后的主、客体溶液用缓冲溶液定容后摇匀, 分别置于超声振荡器中, 于室温下超声振荡 30min 后, 在分光光度计上, 用 1.00cm 液池, 相对于水扫描得吸收光谱, 分别记录各谱最大吸收位置的吸光度。

2 结果与讨论

紫外-可见分光光度法是研究环糊精与包含发色团的有机客体之间相互作用的最常用方法^[9]。1951 年 Cramer 首次观察到环糊精存在下, 某些有机客体的吸收光谱会发生改变^[10], 从那以后, 人们对这一现象进行了很多研究^[11-13]。

客体在与环糊精及其衍生物的包合过程中, 其分子或疏水基团(如苯环)会部分或全部地嵌入主体空腔中, 产生构型上的变化, 因此客体氨基酸分子中的苯环可作为一种光谱探针, 用于研究主、客体的包结过程。图 2 是具有代表性的 D 、 L -苯丙氨酸与 γ -环糊精体系的 UV-Vis 光谱图。由图可见, 加入环糊精前后, 在 230 ~ 330nm 范围内, 最大吸收波长基本上无位移, 但吸光度随环糊精浓度增加而减小, 出现这一现象可能与 CD 空腔内高电子密度诱导客体分子电子发生移动有关, 表明环糊精(H)与客体(G)之间发生了相互作用。假定按 1:1 的计量比进行反应, 主、客体之间的包结作用可以用方程(1)来表达:



式(1)中的 HG 代表苯丙氨酸-环糊精包合物。因此主体和客体形成的超分子其稳定常数 (K) 可以利用式(2)即 Hildebrand-Benesi 方程^[14]得到,

$$\frac{([G_0][H_0])}{\Delta A} = 1/(K\Delta\epsilon) + ([G_0] + [H_0])/\Delta\epsilon \quad (2)$$

式中的 $[G_0]$ 表示氨基酸的总浓度, $[H_0]$ 表示环糊精及其衍生物的总浓度, $\Delta\epsilon$ 表示包含和未包含的客体化合物消光系数之差, ΔA 表示加入环糊精或环糊精衍生物后客体生色团的吸收变化。根据式(2)以 $[G_0][H_0]/\Delta A$ 对 $([G_0] + [H_0])$ 作图, 可以获得各个体系包合物的稳定常数。

就检测的四个主体分别与 D -、 L -、 D 、 L -苯丙氨酸相互作用形成的超分子体系而言, 以 $([G_0]$

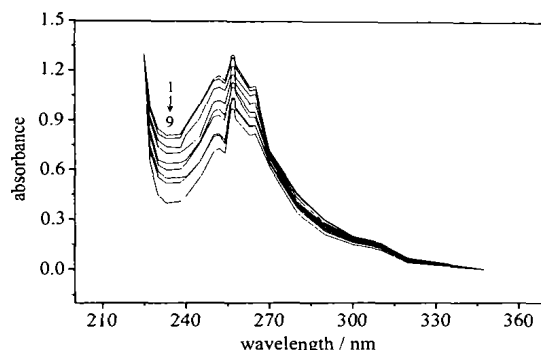


图 2 γ -环糊精存在下, D 、 L -苯丙氨酸的吸收光谱图

Fig. 2 Influence of γ -CD concentration on absorbance of D 、 L -phenylalanine ($5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

γ -CD: (1) 0, (2) 2.80, (3) 5.60, (4) 8.40, (5) 11.2, (6) 14.0, (7) 16.8, (8) 19.6, (9) 22.4 ($\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

$[H_0])/\Delta A$ 值对 $([G_0] + [H_0])$ 值作图, 均给出了良好的线性关系, 证实在形成的超分子包合物中, 主、客体的化学计量比为 1:1, 从斜率和截距计算的包合物稳定常数列于表 1。

从表 1 可以看出, 不同腔径的几个半天然主体 1、2 和 4 与 D -、 L -、 D 、 L -苯丙氨酸形成的超分子, 在室温中性水溶液中的稳定性都比较小, 这些数据与其他作者通过微量量热法所获得的结果基本一致(在同一数量级)^[15-18], 表明作为客体分子的苯丙氨酸与主体环糊精之间仅有相对较弱的包结作用。

从疏水作用原理、分子结构模拟、尺寸适合观点等出发, 苯环与环糊精特别是 α -环糊精的空腔有相当好的结构、性质匹配, 理论上, 这类主、客体间的包合似乎应有更大的结合常数, 由此来看, 苯丙氨酸与主体环糊精之间仅有较弱的结合很可能源于苯丙氨酸分子中的氨基和(或)羧基与环糊精的端羟基之间存在某种氢键相互作用, 妨碍了主、客体之间的进一步包结, 即分子间氢键的形成使得苯环难以有效地深入到环糊精的空腔中, 这一推测从环糊精衍生物即主体 3(14 个端羟基被甲氧基取代)与 D -、 L -、 D 、 L -苯丙氨酸包合物均有相对较强的结合常数得到了初步证实。

值得指出的是有文献报道, 与母体环糊精比较, 其双核铜配合物对芳香氨基酸显示更强的包结作用, 这可能与配合物中的双核铜与氨基酸之间能产生较强的结合能力有关^[19]。与母体环糊精比较, 修饰环糊精通常对客体有增强的包结作用, 对不同的

表1 主体1~4与苯丙氨酸形成超分子的稳定常数

Table 1 Stability Constants of the Supramolecules of Hosts 1~4 with Phenylalanine (K , pH = 6.84)

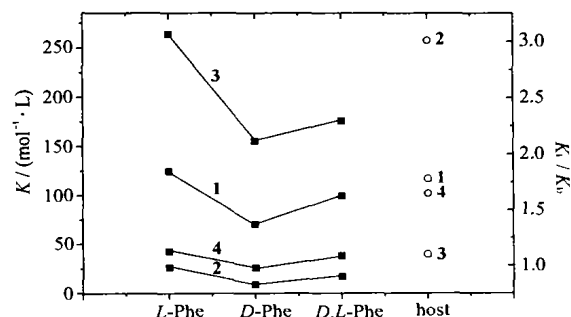
host	phenylalanine	$K/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$\log K$	$-\Delta G^\ominus/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$-\Delta\Delta G^\ominus/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	K_L/K_D
1	L-	125.0	2.10	12.0		
	D-	70.4	1.85	10.6	1.4	1.78
	D, L-	99.8	2.00	11.4		
2	L-	26.5	1.42	8.1		
	D-	8.80	0.94	5.3	2.8	3.01
	D, L-	17.0	1.23	7.0		
3	L-	264.1	2.42	13.8		
	D-	155.7	2.19	12.5	1.3	1.70
	D, L-	176.2	2.25	12.8		
4	L-	42.8	1.63	9.3		
	D-	26.0	1.41	8.0	1.3	1.65
	D, L-	38.3	1.58	9.0		

包结体系而言,修饰基团促进主、客体缔合的作用形式也有所不同^[1, 5, 19, 20]: (a) 修饰基团的存在有效地拓展了环糊精空腔的深度,使得已进入空腔的客体分子不再易于摆脱;(b) 修饰基团对客体的识别作用,增加了主、客体分子识别的作用位点,诱导客体嵌入内腔或逼近空腔端口;(c) 单端修饰基团也称加冠基团的引入实际上起到了“帽子”的作用,有效地阻止了已嵌入客体分子从CD加冠端脱离空腔的可能性;(d) 客体分子中极性大的基团往往与空腔端口的羟基形成氢键,而使得客体分子常驻留于环糊精端口附近,主、客体之间的包结作用较弱。通过选择性修饰使空腔端羟基中的一部分或全部被转变为甲基或甲氧基,通常能加强这类客体与主体间的结合。

D-、L-、D, L- 苯丙氨酸与母体环糊精 1、2 和 4 形成的超分子包合物,其稳定性顺序为: $1 > 4 > 2$,即手性或外消旋苯丙氨酸与 α - 环糊精的结合稍强于 β - 或 γ - 环糊精,这可能是客体分子中作为进入基团的苯环其尺寸(分子直径与体积分别为 $4.97\text{\AA}$ 和 $148\text{\AA}^3$)更匹配于腔径稍小一些的 α - 环糊精(腔径与空腔体积分别为 $4.7 \sim 5.3\text{\AA}$ 和 $174\text{\AA}^3$)^[2]的缘故。 γ - 环糊精与这些客体的结合能力略大于 β - 环糊精,则可能与主、客体之间特定的作用形式有关^[13]。造成三种常见母体环糊精对同一客体包结能力差异的原因,不仅取决于客体分子的结构(分子体积、形状)和性质,而且可能与主体不同的水溶性^[2]及其大环构造上的差异^[21, 22](由奇数葡萄糖单元组成的 β - 环糊精,其大环构造明显不同于由偶数葡萄糖单元构成的 α - 或 γ - 环糊精)等有关。

利用表1的数据以 K 对 D-、L-、D, L- 苯丙氨

酸作图(图3)可以看出,主体1~4与 D-、L-、D, L-Phe 形成超分子包合物的稳定常数均遵循: $L- > D, L- > D-$ 这一顺序,即 L 型苯丙氨酸与环糊精及其衍生物有相对较强的包结作用;各体系的 K_L/K_D 都不算大,并且 K_L/K_D 的顺序为: $2 > 1 > 3 > 4$,也不完全等同于这些客体与几个主体结合能力的相对大小: $3 > 1 > 4 > 2$ 。尽管 β -CD 有相对较好的异构体识别能力,但对 Phe 的包结作用最弱;如此相对照,其衍生物七(2, 6-二-o-甲基)- β -CD 对苯丙氨酸的包结作用最强,但异构体识别能力较弱。这些结果表明,环糊精及其衍生物与手性氨基酸之间的包合行为与主、客体的结构紧密相关,即环糊精及其衍生物对氨基酸分子的包结作用与手性识别能力既可能与主、客体之间尺寸适合关系、氨基酸分子中各基团的空间排布等有关,也可能与主体腔径大小、大环构造、修饰基团的结构与性质等因素有关。主、客体之间能否产生包结以及缔合作用强弱分别取决于客体分子嵌入主体空腔的几率与深度,组成相同、空间结构稍有差别的 D-、L- 苯丙氨酸及其外消旋体与同一主体具有不同程度的键合作用,表明 CDs 可以

图3 以 K 对 D-、L-、D, L- 苯丙氨酸作图Fig. 3 Plot of K vs D-、L-、D, L-phenylalanine

感知客体结构上的细微差异, K_L/K_D 的值大于 1.65 (对 β -CD 而言为 3), 给出了较好的异构体分离, 意味着利用这类环状主体可以实现对手性苯丙氨酸的鉴定、分离以及对外消旋体的化学拆分。

综上所述, 主体端羟基的多寡与分布、大环构造(腔径、腔高、扭变度等)及其与客体结构、性质的相关性是造成 D -、 L -苯丙氨酸与主体包结能力差异的重要原因。此外, 比较 D -、 L -苯丙氨酸的分子结构, 结合相关报道^[1, 5, 23, 24]可知, 包合过程中, 客体分子中的苯环最有可能成为进入基团, 部分或全部地嵌入主体内腔, 从初步的构型优化来看, D -苯丙氨酸分子中苯环上的氢与氨基上氢的最近距离(1.79 Å), 稍小于 L -苯丙氨酸分子中苯环上的氢与羧基上氧的最近距离(2.18 Å)。因此就苯丙氨酸分子中的其它基团或原子妨碍进入基团苯环伸入主体腔内而言, D 型稍大于 L 型, 这可能也是造成 D -、 L -苯丙氨酸与主体包结能力差异的原因之一。

参 考 文 献

- [1] SONG Le-Xin (宋乐新), GUO Zi-Jian (郭子建) *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **2001**, **17**, 457.
- [2] Szejtli J. *Chem. Rev.*, **1998**, **98**, 1743.
- [3] Giordano F., Novak C., Moyano J. R. *Thermochim. Acta*, **2001**, **380**, 123.
- [4] YANG Yang (杨 阳), CHEN Hui-Lan (陈慧兰) *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **1999**, **15**, 631.
- [5] Rekharsky M. V., Inoue Y. *Chem. Rev.*, **1998**, **98**, 1875.
- [6] SONG Le-Xin (宋乐新), TU Chao (涂 超), ZHAO Liang (赵 亮), GUO Zi-Jian (郭子建) *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **2002**, **18**, 518.
- [7] LIU Yu (刘 育), ZHANG Yi-Min (张毅民), SUN Shi-Xin (孙世新), ZHANG Zhi-Hui (张智慧), CHEN Rong-Ti (陈荣悌) *Huaxue Xuebao* (Acta Chimica Sinica), **1997**, **55**, 779.
- [8] Song L. X. *Chin. Chem. Lett.*, **2001**, **12**, 119.
- [9] Li S., Purdy W. C. *Chem. Rev.*, **1992**, **92**, 1457.
- [10] Cramer F. *Chem. Ber.*, **1951**, **81**, 851.
- [11] Gelb R. I., Raso S., Alper J. S. *Supramol. Chem.*, **1995**, **4**, 279.
- [12] Tong L. H., Pang Z. Z., Yi Y. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.*, **1995**, **23**, 119.
- [13] CHEN Yong-Ming (陈永明), HE Bing-Lin (何炳林) *Kexue Tongbao* (Chin. Sci. Bulletin), **1995**, **40**, 2060.
- [14] Benesi H. A., Hilderbrand J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, **71**, 2703.
- [15] Rekharsky M. V. *J. Phys. Chem.*, **1994**, **98**, 10282.
- [16] Castronuovo G., Elia V., Fessas D., Giordano A., Velleca F. *Carbohydr. Res.*, **1995**, **272**, 31.
- [17] Matsuyama K., El-Gizawy S., Perrin J. H. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **1987**, **13**, 2687.
- [18] Paduano L., Sartorio R., Vitagliano V., Castronuovo G. *Thermochim. Acta*, **1990**, **162**, 155.
- [19] LIU Yu (刘 育), LI Bin (厉 斌), ZHANG Yi-Min (张毅民), PU Xian-He (卜显和), LI Yu-Mei (李玉梅), CHEN Rong-Ti (陈荣悌) *Kexue Tongbao* (Chin. Sci. Bulletin), **1995**, **40**, 1858.
- [20] SONG Le-Xin (宋乐新) *Huaxue Xuebao* (Acta Chimica Sinica), **2001**, **59**, 1201.
- [21] Harata K. *Chem. Rev.*, **1998**, **98**, 1803.
- [22] Harata K. *Comprehensive Supramol. Chem.*, Vol. 3, *Cyclodextrins*, Atwood J. L., Davies J. E. D., MacNicol D. D., Vogtle F. Eds. Pergamon: Oxford, **1996**, 279.
- [23] Tabushi I., Kuroda Y., Mizutani T. *Tetrahedron*, **1984**, **40**, 545.
- [24] Tabushi I. *Acc. Chem. Res.*, **1982**, **15**, 66.

Inclusion Phenomena and Molecular Recognition Study on the Supramolecular System of Cyclodextrins-Phenylalanine

SONG Le-Xin^{1,2} ZHAO Liang¹ GUO Zi-Jian^{*·1}

(¹ Coordination Chemistry Institute, State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093)

(² Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

The association constant values, K , for the interaction of α -CD **1**, β -CD **2**, heptakis(2, 6-di-*o*-methyl)- β -CD **3** and γ -CD **4** with *D*-, *L*-, *D*, *L*-phenylalanine (Phe) were determined by means of UV-vis spectroscopy. The order of the K value is $L > D$, $L > D$ -Phe for the same host. The K_L/K_D value is between 1.65 and 3.01, indicating that an optically active isomer can be effectively separated by means of inclusion compounds formation. The order of the K_L/K_D value ($2 > 1 > 3 > 4$) is different from that of the K value ($3 > 1 > 4 > 2$).

Keywords: cyclodextrin amino acid inclusion compound molecular recognition