

衍生基团对环糊精空腔疏水性的影响

王亚敏^{2,3}, 王金鹏^{2,3}, 金征宇^{*1,3}, 徐学明^{2,3}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江南大学, 江苏 无锡, 214122; 3. 食品安全与营养协同创新中心, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要: 环糊精空腔疏水性是促进主客体复合物形成的重要驱动力之一, 然而相关的研究报道非常少。作者以芘作为荧光探针, 对 β -环糊精及其3种不同衍生物(羟丙基- β -环糊精、甲基- β -环糊精、磺丁基醚- β -环糊精)的空腔疏水性进行比较研究。结果表明, 4种环糊精的空腔疏水性强弱顺序为 $M-\beta-CD < HP-\beta-CD \approx S-\beta-CD < \beta-CD$, 经测定包含常数大小顺序 $M-\beta-CD < HP-\beta-CD < S-\beta-CD < \beta-CD$, 这与极性测定实验结果相符, 进一步验证了衍生基团引入降低了环糊精空腔的疏水性。

关键词: 芘; β -环糊精; 环糊精衍生物; 疏水性

中图分类号: TS 236.9 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2014)04—0344—05

Influence of Side Chains of β -cyclodextrin Derivatives on Cavity Hydrophobicity

WANG Yamin^{2,3}, WANG Jinpeng^{2,3}, JIN Zhengyu^{*1,3}, XU Xueming^{2,3}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Cyclodextrin cavity polarity is one of the driving forces of incorporating molecules selectively to form inclusion complexes, however, very few studies have reported. This paper aims at studying the cavity polarity of β -cyclodextrin and its three different derivatives (hydroxypropyl- β -cyclodextrin, methyl- β -cyclodextrin, sulfobutyl ether- β -cyclodextrin) by using pyrene as a fluorescent probe. The results show that the pecking order of hydrophobicity of four kinds of cyclodextrin cavity is $M-\beta-CD < HP-\beta-CD \approx S-\beta-CD < \beta-CD$, and the pecking order of association constants is $M-\beta-CD < HP-\beta-CD < S-\beta-CD < \beta-CD$, these two matched results further validate the derived group introduced to reduce the hydrophobicity of cyclodextrin cavity.

Keywords: pyrene, β -cyclodextrin, cyclodextrin derivatives, hydrophobicity

收稿日期: 2013-12-09

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(31230057); 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD37B03); 江苏高校优势学科建设工程资助项目。

* 通信作者: 金征宇(1960—), 男, 江苏扬州人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事碳水化合物资源开发与利用研究。

E-mail: jinlab2008@yahoo.com

环糊精(Cyclodextrin, CD)是由 D-吡喃型葡萄糖单元通过 α -(1 $\rightarrow$ 4)-糖苷键连接而成的一类环状低聚麦芽糖,因吡喃葡萄糖环 C-3, C-5 氢原子位于空腔内并覆盖了配糖氧原子,使环糊精空腔内部形成疏水性空腔^[1],能与脂溶性分子形成包合物,已经广泛用于食品、医药、化工、材料和分析化学等领域^[2-5]。环糊精与客体分子形成包合物,受一些关键因素影响,如环糊精空腔大小与客体分子几何尺寸匹配程度、疏水作用力、氢键、高能水的释放等^[6];对于空腔大小几乎相同的环糊精及其衍生物来讲,环糊精空腔与客体分子的匹配程度差别可以忽略,然而衍生基团造成了环糊精衍生物和环糊精母体截然不同的包埋效果。例如, Hirayama 等^[7]研究了前列腺素 E₂ 在各种环境下的脱氢速率,发现其与甲基- β -CD 包埋后对反应起抑制作用,而母体 β -CD 则对前列腺素 E₂ 脱氢反应起加速作用; Pitha 等^[8]报道雌二醇与 HP- β -CD 形成的包合物压片,该片经舌下给药后导致药物的有效吸收,而 β -CD 则不会改善雌二醇的吸收。此外,同一环糊精母体的不同衍生物之间的包埋效果也大不相同, Arima 等^[9]报道 Tracrolimus (一种防止器官移植排异药)与磺丁基醚- β -CD 作用时基本上以 1:1 的比例包合,而与 HP- β -CD 作用时就可能形成包合比为 1:2 甚至 1:3、1:4 的包合物,且磺丁基醚- β -CD 的包合效果优于 HP- β -CD。

虽然上述报道介绍了母体环糊精与衍生物对于客体分子包埋行为之间存在明显差异,然而并未揭示衍生基团造成包埋效果差异的内在原因,并且不同衍生基团造成环糊精空腔疏水性的差异并无相关报道。作者选择对环境极性敏感的芘作为荧光探针,研究环糊精衍生基团造成空腔疏水性变化规律。芘是一种常用的测定介质极性的荧光探针,存在 5 个电子振动发射谱带,其中第一发射谱带 I₁ (约 373 nm)是对称性禁阻的,对所处环境的极性变化比较敏感,在极性环境中,由于电子振动耦合的干扰,其对称性遭到破坏,使得 I₁ 发射谱带强度增强,而第 3 条发射谱带 I₃ (约 384 nm)对环境的极性变化不敏感,因此, I₁/I₃ 值可以表征芘所处环境的极性强弱^[10-11]。Glushko 等^[12]均选用芘作为探针,对溶液极性进行测定。根据芘的这一原理,采用环糊精对芘进行包埋,以芘的荧光 I₁/I₃ 值指示环糊精疏水性空腔的变化,以期揭示环糊精衍生物的衍生基团

对环糊精母体空腔疏水性变化规律提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂

芘标准样品:纯度>99%,美国 Aldrich 公司产品; β -环糊精(β -CD)、羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)、甲基- β -环糊精(M- β -CD)、磺丁基醚- β -环糊精(S- β -CD):分析纯,山东新大生物技术有限公司产品;甲醇、乙醇、乙二醇、氯仿、二甲亚砜、环己烷:分析纯,国药集团产品。

1.2 仪器

荧光光谱仪:F-7000, HITACHI 产品;氮吹仪:QSC-12T, 上海泉岛公司产品;恒温搅拌器:C-MAG HS7, IKA 产品;超声波清洗仪 KQ5200:昆山市超声仪器有限公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 芘储备液的配制 准确称取 10.112 mg 芘至烧杯,加入适量甲醇将其溶解后转移到 50 mL 洁净的容量瓶中,并用甲醇稀释至容量瓶刻度,可得到 1×10^{-3} mol/L 的芘的储备液。

1.3.2 探针灵敏性检测 准确移取 50 μ L 芘的储备液于洁净的 10 mL 容量瓶中,将其置于氮吹仪通 N₂ 至接近瓶底吹干甲醇,再分别加入甲醇、乙醇、氯仿、乙二醇、二甲亚砜、环己烷等不同极性的有机溶剂,作为溶液极性变化指示剂,定容至刻度,超声 30 min,置于荧光光谱仪进行荧光扫描。荧光扫描条件如下:激发波长 334 nm,激发狭缝设置 10 nm,发射狭缝 5 nm,扫描范围:360~460 nm,扫描速率为 1 200 nm/min, PMT 检测电压为 400 V。以第一发射谱带的荧光强度为 I₁, 第三发射谱带的荧光强度为 I₃ 分别计算扫描图谱的 I₁/I₃ 值,则该比值越大,表明极性越强、疏水性越弱。

1.3.3 母体环糊精-芘包合物的配制 准确移取 50 μ L 芘的储备液于洁净的 10 mL 容量瓶中,将其置于氮吹仪通 N₂ 至接近瓶底吹干甲醇,再分别加入浓度为 0.016 4 g/mL 的 β -环糊精溶液 2、4、6、8、10 mL,不足 10 mL 部分用移液管加水定容至刻度,从而保证芘最终浓度为 5×10^{-6} mol/L,超声 30 min 促使环糊精-芘包合物充分形成,25 $^{\circ}$ C 下放置 48 h,按照 1.3.2 方法进行测定。

1.3.4 环糊精衍生物-芘包合物的配制 分别配制 HP- β -CD、M- β -CD、S- β -CD 与芘包合物溶液,并

保持3种衍生物的浓度梯度与母体环糊精一致,按照1.3.3的方法进行测定。

1.3.5 包合常数的确定 依据 Benesi-Hildebrand 方程确定包合常数和包合比^[13], B-H 方程为:

$$\frac{1}{(I-I_0)} = \frac{1}{(Kk[P]_0[CD]_0)} + \frac{1}{kQ[P]_0} \quad (1)$$

公式(1)中 I 和 I_0 分别代表体系中有无 CD 存在时芘的荧光发射强度; $[P]_0$ 和 $[CD]_0$ 分别代表芘和 CD 的总浓度; k 是仪器常数; Q 为芘的荧光量子产率; K 代表 CD-芘包合物的结合常数。以 $1/(I-I_0)$ 为纵坐标, $1/[CD]_0$ 为横坐标绘制双倒数曲线, 直线的截距除以斜率即可求得结合常数 K 。

2 结果与讨论

2.1 探针灵敏度检测

芘在不同溶液中的荧光光谱图如图1所示。

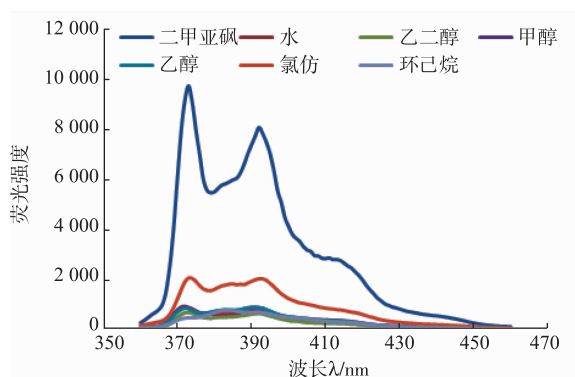


图1 芘在不同溶剂中的荧光光谱

Fig. 1 Fluorescence spectra of pyrene in different solvents

由图1可以看出,芘在不同溶剂中的荧光强度有较大差异,而这几种溶剂对芘并无荧光淬灭效应^[14],推测这可能是因为芘在不同极性溶液中的溶解度有较大差异所导致的。对图中的 I_1/I_3 值进行计算,结果如图2所示。

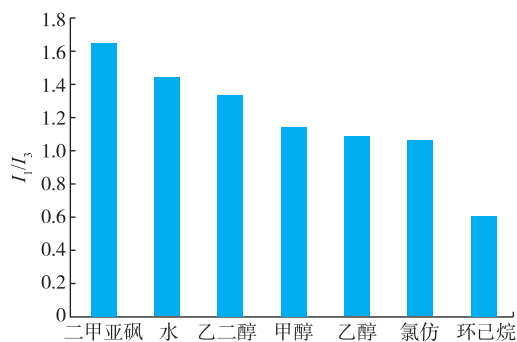


图2 芘在不同溶剂中的 I_1/I_3 值

Fig. 2 I_1/I_3 value of pyrene in different solvents

由图2可以看出,芘作为探针测定出溶剂的极性顺序分别为:二甲亚砜>水>乙二醇>甲醇>乙醇>氯仿>环己烷,这表明芘对于疏水性强弱具有良好的指示灵敏性,能够准确指示溶剂环境的疏水性变化。

2.2 环糊精及其衍生物的芘包合物疏水性变化

HP- β -CD、S- β -CD、M- β -CD 等因衍生基团的引入均打破了母体环糊精空腔内的氢键^[15],从而大大增加了其在水中的溶解度,可以配成浓度较高的溶液从而包含更多的客体分子。与母体环糊精相比,环糊精衍生物可以更好的增加其溶解性,具有更广泛的应用价值,然而鲜有报道关注环糊精衍生物与母体环糊精包埋行为存在的差异。以空腔疏水性变化为切入点,分别研究了不同衍生物的引入导致环糊精空腔疏水性的变化,结果如图3所示。

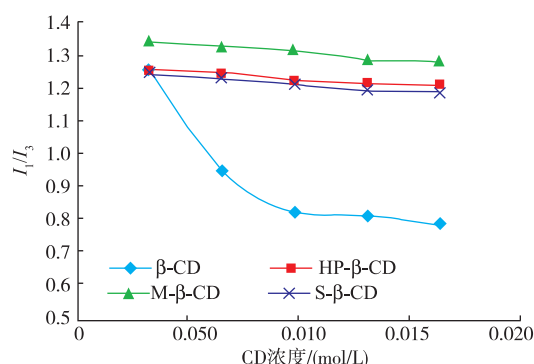


图3 环糊精不同浓度下 I_1/I_3 值

Fig. 3 I_1/I_3 values for the various concentrations of CDs

由图3可以看出,在较低浓度时(0.005 mol/L), β -环糊精空腔疏水性与 HP- β -CD 及 S- β -CD 无显著差异,略高于 M- β -CD,这可能是由于,低浓度的环糊精母体在包合物形成过程中所受的主要驱动力为高能水的释放^[16],空腔疏水性所主导的疏水作用力不占优势。但随着环糊精浓度的提高,环糊精空腔疏水性维持稳定,此时,母体环糊精的空腔疏水性远远大于各种环糊精衍生物,这可能是由于衍生基团的加入,使母体环糊精原本贡献空腔疏水性的 C、H 等质子的疏水性特征减弱,进而影响空腔疏水微环境。刘育等^[17]也曾报道化学修饰环糊精的取代基影响环糊精空腔原有的疏水微环境。

由图3还可以看出,环糊精衍生物的衍生基团造成环糊精母体空腔疏水性大小依次为 M- β -CD<

HP- β -CD $\approx$ S- β -CD< β -CD, 推测可能是由于这些衍生基团多数发生在环糊精的 C-2 位,驱动临近的位置疏水性 C-3 发生偏移,从而造成环内疏水性贡献减弱,衍生基团疏水性越强,则造成环内疏水性减弱越明显,具体的机理有待进一步探索。

2.3 环糊精及其衍生物的包埋常数

依据 1.3.5 所述方程的物理意义绘制双倒数曲线如图 4 所示。

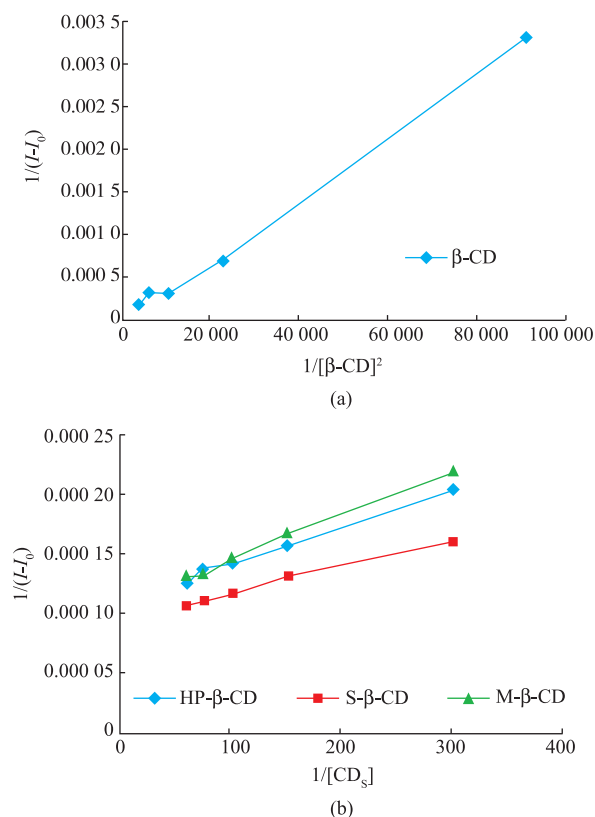


图 4 包埋常数线性拟合曲线

Fig. 4 Linear fitting curves of Association constant

由图 4 可以看出,曲线均呈良好的线性关系,根据 Shalini 等^[18]的报道,这表明 β -CDs 衍生物均形成 1:1 的主客体包合物,而 β -CD 与单分子 β -CD 形成 1:2 的主客体包合物。

推测在 β -CD 体系中, β -CD 由于疏水相互作用而靠近, β -CD 分子两端分别插入到 β -CD 分子

的非极性的空腔中,而后两个 β -CD 分子在大口端以氢键连接与 β -CD 形成夹心式的包合物,而 β -CD 的衍生物在大口端引入取代基,阻碍了其与大口端形成类似的 1:2 包合物,只能形成 1:1 包合物。分别计算 4 种环糊精与 β -CD 的包埋常数,结果见表 1。

表 1 β -CD 及其 3 种衍生物的包埋常数 K

Table 1 Association constant K of β -CD and its three derivatives

CDs	K
β -CD	1 000
HP- β -CD	400
M- β -CD	333
S- β -CD	500

包埋常数是衡量主客体包埋能力的一种参数。由表 1 可以看出, β -CD 对 β -CD 的包埋常数远大于其他 3 种环糊精衍生物,这说明 β -CD 与单分子 β -CD 形成包合物的能力大于其 3 种衍生物,而在包合物形成的要素中,环糊精与其衍生物相比最大的区别是衍生基团的引入导致环糊精环内疏水性发生变化,这也进一步证实了疏水性作用力是环糊精及其衍生物与客体分子形成包合物的重要驱动力之一,而且环糊精衍生基团的引入降低了环糊精空腔的疏水性。该发现和 Seiki Tanada 等^[19]的报道并不相符合,在 Seiki 的研究报道中指出分支环糊精的疏水性比母体环糊精强,然而文中所采用的探针极性灵敏性、探针对于环糊精的匹配性等均无详细信息,针对环糊精空腔疏水性的研究报道非常少,无法提供详细参考,但作者的研究将为探索环糊精及其衍生物包埋行为差异提供有价值的参考。

3 结语

极性实验表明 β -CD 的空腔疏水性要高于 HP- β -CD、M- β -CD、S- β -CD 3 种衍生物,包埋常数计算结果表明, β -CD 比 3 种衍生物具有更强的包合能力,衍生基团导致环糊精空腔包埋能力下降的机理有待进一步探索。

参考文献:

- [1] 金征宇,顾正彪,童群义,等. 碳水化合物化学:原理与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2008:126-128.
- [2] 吕翠翠,肖作兵,冯涛. 羟丙基- β -环糊精/玫瑰香精纳米胶囊制备工艺的优化[J]. 食品与生物技术学报,2011,30(6):843-851.
- LV Cuicui, XIAO Zuobing, FENG Tao. Preparation of HP- β -CD & rose flavor nanocapsulates[J]. *Journal of Food Science and*

- Biotechnology**, 2011, 30(6):843–851.(in Chinese)
- [3] 李云, 孙立伟, 赵胜芳, 等. β -环糊精包合技术在中药药剂中的应用[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(1):189–191.
LI Yun, SUN Liwei, ZHAO Shengfang, et al. Application of β -cyclodextrin inclusion technique in traditional Chinese medicine pharmacy[J]. **Chinese Journal of Modern Drug Application**, 2009, 3(1):189–191.(in Chinese)
- [4] 李霞, 周智明, 孟子晖. β -环糊精衍生物的超分子体系识别机理及其在手性分离中的应用[J]. 色谱, 2010, 4:413–421.
LI Xia, ZHOU Zhiming, MENG Zihui. Recognition mechanism of supramolecular systems of β -cyclodextrin derivatives and applications in chiral separation[J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2010, 28(4):413–421.(in Chinese)
- [5] 康琼, 王兰英, 黄怡. β -环糊精及其衍生物的应用研究进展[J]. 咸阳师范学院学报, 2013, 28(2):21–27.
KANG Qiong, WANG Lanying, HUANG Yi. Progress in application of cyclodextrin and their derivatives [J]. **Journal of Xianyang Normal University**, 2013, 28(2):21–27.(in Chinese)
- [6] J W 斯蒂德, J L 阿特伍德. 超分子化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [7] Fumitoshi H, Masahiko K, Kaneto U. Improvement of chemical instability of prostacyclin in aqueous solution by complexation with methylated cyclodextrins[J]. **International Journal of Pharmaceutics**, 1987, 35(3):193–199.
- [8] Josef P, Mitchell H, Mary E M. Hydrophilic cyclodextrin derivatives enable effective oral administration of steroidal hormones[J]. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 1986, 75(2):165–167.
- [9] Arima H, Yunomae K, Miyake K, et al. Comparative studies of the enhancing effects of cyclodextrins on the solubility and oral bioavailability of tacrolimus in rats[J]. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2001, 90(6):690.
- [10] 郑少君, 袁钊, 曾毅, 等. 苣和蒽作为荧光探针探测树枝形聚合物微环境[J]. 物理化学学报, 2008, 24(10):1785–1789.
ZHENG Shaojun, YUAN Zhao, ZENG Yi, et al. Microenvironment of dendrimers probing by pyrene and anthracene as fluorescence probes[J]. **Acta Physico-Chimica Sinica**, 2008, 24(10):1785–1789.(in Chinese)
- [11] Halasová T, Krouská J, Mravec F. Hyaluronan–surfactant interactions in physiological solution studied by tensiometry and fluorescence probe techniques[J]. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2011, 391(1–3):25–31.
- [12] Shirshin E A, Budylin G S, Grechischeva N Y, et al. A novel fluorescence spectroscopy approach to characterization of interaction between humic substances and pyrene: Determination of Environmental Polarity [C]//Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment, 2013, 685–689.
- [13] Soumitra H, Maidul H, Gopinatha S K. Binding of isoquinoline alkaloids berberine, palmatine and coralyne to hemoglobin: structural and thermodynamic characterization studies[J]. **Molecular BioSystems**, 2013, 9(1):143–153.
- [14] 付海英, 邢兆国, 吴国忠. 苣在离子液体及常规溶剂中的激光闪光光解研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(5):1344–1347.
FU Haiying, XING Zhaoguo, WU Guozhong. Laser photolysis studies on pyrene in ionic liquids and conventional solvents[J]. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 2011, 31(5):1344–1347.(in Chinese)
- [15] 袁超, 金征宇, 赵建伟, 等. 羟丙基- β -环糊精分子识别能力研究[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(5):25–30.
YUAN Chao, JIN Zhengyu, ZHAO Jianwei, et al. Investigation of molecular recognition ability of Hydroxypropyl- β -Cyclodextrins [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2007, 26(5):25–30.(in Chinese)
- [16] 董峰光, 姜子涛, 李荣. 环糊精及其衍生物包结赤藓红的荧光光谱研究[J]. 食品科技, 2009, 34(6):67–70.
DONG Fengguang, JIANG Zitao, LI Rong. Fluorophotometric study on inclusion reaction of β -cyclodextrin and its derivatives with erythrosine[J]. **Food Science and Technology**, 2009, 34(6):67–70.(in Chinese)
- [17] 刘育, 尤长城, 张衡益. 超分子化学: 合成受体的分子识别与组装[M]. 天津: 南开大学出版社, 2001.
- [18] Shalini G, Sankar J, Nikhil G. Constrained photophysics of partially and fully encapsulated charge transfer probe (E)-3-(4-Methylaminophenyl) acrylic acid methyl ester inside cyclodextrin nano-cavities: Evidence of cyclodextrins cavity dependent complex stoichiometry[J]. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2011, 84:249–255.
- [19] Seiki T, Takeo N, Naohito K, et al. Inclusion of volatile organic compounds into natural cyclodextrins and their branched cyclodextrins in the gaseous phase[J]. **Journal of Colloid and Interface Science**, 1997, 186:180–184.