



β -环糊精-布洛芬超分子包合物的制备及其结构的核磁共振表征

张春春¹, 付海燕², 王晓燕^{1*}

(1. 四川大学 分析测试中心, 成都 610064; 2. 四川大学 化学学院, 成都 610064)

摘要: 超分子化学是一个处于近代化学、材料科学和生命科学交汇点的新兴跨学科的研究领域。其中 β -环糊精作为一类典型的超分子结构, 其主客体相互作用机制被广泛应用于药物缓释剂的开发。该实验的引进是希望通过核磁共振 ROESY 和 DOSY 技术观察 β -环糊精与布洛芬的包合作用, 帮助学生建立理解有机小分子理论与超分子结构特征的桥梁, 并能熟练使用核磁共振谱仪和进行谱图解析。

关键词: 超分子结构; β -环糊精; 核磁共振技术; 实验教学

中图分类号: O633

文献标志码: A

DOI: 10.12179/1672-4550.20210108

Preparation and NMR Characterization of β -cyclodextrin Ibuprofen Supramolecular Inclusion Complex

ZHANG Chunchun¹, FU Haiyan², WANG Xiaoyan^{1*}

(1. Analytical & Testing Center, Sichuan University, Chengdu 610064, China;

2. College of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Supramolecular chemistry is a new interdisciplinary research field at the intersection of modern chemistry, material science and life science. β -cyclodextrin (β -CD) is a kind of typical supramolecular structure, and its host guest interaction mechanism is widely used in the development of drug sustained-release agents. The introduction of this experiment is to observe the inclusion interaction of β -cyclodextrin and Ibuprofen by nuclear magnetic resonance ROESY and DOSY techniques, so as to help students understand the theory of small organic molecules and the structural characteristics of supramolecules, and proficiently use nuclear magnetic resonance spectrometer and spectral analysis.

Key words: supramolecular structure; β -cyclodextrin; NMR technology; experimental teaching

近年兴起的“科教融合, 学术育人”的教学理念将科学研究的前沿成果引入课堂, 以“研教”的方式培养学生的科学创新能力已得到充分的重视。当前大学化学的根本目的是培养创新型人才, 因此该教学模式对于本科化学实验教学而言尤为重要。超分子化学是基于冠醚与穴状配体发展起来的一门交叉学科, 超分子体系由于其特殊的分子间相互作用, 在医药、生物、物理材料等学科有广泛的应用^[1-2]。超分子的结构和功能研究在国外高校中已被纳入研究生和本科生教学^[3-4],

但在国内的有机化学实验教学中尚未普及。

核磁共振技术是研究分子结构的重要手段, 其中 2D ROESY (2D rotating-frame overhauser spectroscopy) 是旋转坐标系的 NOSEY 谱, 适合检测分子量在 1000~3000 之间空间距离在 0.35~0.5 nm 范围内的氢核与氢核相关, 提供化合物的立体结构信息, 确定主客体分子相互作用的位点。二维扩散序谱 DOSY (2D diffusion ordered spectroscopy) 可测量混合物溶液中各组分的自扩散系数, 而这些扩散系数在一定程度上与组分分子大小相关^[5],

收稿日期: 2021-03-01; 修回日期: 2022-12-17

基金项目: 四川大学实验技术项目资助(SCU201212)。

作者简介: 张春春(1978-), 女, 博士, 高级实验师, 主要从事核磁共振和计算化学的研究。

*通信作者: 王晓燕(1980-), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事核磁共振在有机合成反应中的应用研究。E-mail: 21544340@qq.com

该技术不需要对被测组分进行分离,不会破坏样品结构,可直观反映出主客体分子间是否形成了分子间作用力。

本文以 β -环糊精(β -CD)与药物客体分子布洛芬(Ibuprofen)形成超分子包合物为例,拟将超分子的包合过程及利用核磁共振谱进行结构鉴定引入本科生的有机和仪器分析实验教学中,鼓励学生关注科学进展,接触前沿分析技术,以提高学生对实验教学内容的兴趣和主观能动性。对于“双一流”高校和“双一流”学科来说,这样的综合性实验符合对学生的知识水平、老师的教学能力的要求,也符合对本科阶段人才培养的要求。

1 实验部分

1.1 实验目的

超分子化学经过 20 多年的发展已经成为一门超分子学科,在新物质的产生和新功能的开发中起到重要作用。相比于国外,我国对于超分子的研究水平还有一定的距离。表征技术和研究方法的不断完善有助于超分子化学的进一步发展。将 β -CD 与 Ibuprofen 包合形成超分子化合物的核磁共振研究引进本科高年级化学专业实验教学中,利用核磁共振技术对包合物进行结构鉴定,可以让学生通过了解环糊精与药物分子的包合反应过程建立初步的仿酶与底物作用的概念;帮助学生熟练仪器的基本操作,了解其实际应用,思考如何将现代测试仪器有效融于前沿科学研究。

β -环糊精是由 7 个 D-吡喃葡萄糖单元以 α -1, 4 糖苷键连接而成的大环化合物,其结构特点是含有疏水性空腔和亲水性的外壳^[5-6],是药物分子的有效载体及缓释剂。布洛芬的化学名称为 α -甲基-4-(2-甲基丙基)-苯乙酸,其分子大小及苯环的疏水性与 β -环糊精空腔形状和极性非常匹配,可以形成稳定的包合物^[7-9],如图 1 所示。

1.2 实验原理

β -CD 与客体分子包合物的制备方法有饱和溶液法、研磨法及超声法等等。本实验采用饱和溶液法制备 β -CD-Ibuprofen 包合物。客体分子 Ibuprofen 不易溶于水,与 β -CD 形成包合物后水溶性相对增强,利用这一溶解性的差别将反应后的混合物通过过滤、醇洗、水洗及低温干燥得到 β -CD-Ibuprofen 包合物。利用核磁共振氢谱、DOSY 及 ROESY 等技术检测 β -CD 和 Ibuprofen 包合前

后结构与性质上的差别,学生能更直接地理解包合物的形成特点。

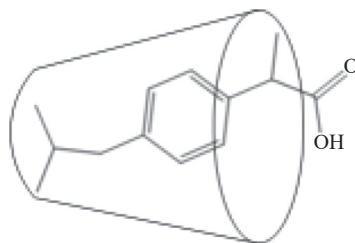


图 1 β -CD-Ibuprofen 包合物示意图

1.3 仪器与试剂

仪器: AVII-600 型核磁共振波谱仪(Bruker Co., Switzerland)。

试剂: β -CD 纯度 99%(华中海威(北京)基因科技有限公司); Ibuprofen 纯度 98%(MACKLIN(麦克林)reagent); 重水(D, 99.9%)(Tenglong Weibo Technology); DMSO- d_6 (D, 99.9%)(Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)。

1.4 课程内容设计及实验步骤

1.4.1 课程内容设计

该实验可分配 2 节实验课(8 个课时)完成,包括实现以下几个目标:

1) 按步骤合成、分离产物(3 个课时),在合成、纯化、干燥过程中进行所需核磁共振实验的理论讲解;

2) 采集 β -CD 及 β -CD-Ibuprofen 包合物核磁共振数据(^1H NMR, DOSY 及 ^1H - ^1H ROESY 相关二维谱图),进行谱图处理及解析(5 个课时)。

实验结束后,学生完成实验报告分析实验数据,解析波谱图。以下对具体实验过程及谱图解析做较为详细的阐述。

1.4.2 饱和溶液法制备 β -CD 与 Ibuprofen 客体分子的包合物

在 50 $^{\circ}\text{C}$ 制备 β -CD(0.5 g/25 mL)的水溶液,缓慢滴加溶于少量乙醇的等摩尔比客体化合物 Ibuprofen,搅拌混合半小时,直到溶液中逐渐出现大量白色沉淀。过滤分离后,用乙醇洗涤残留的客体分子,再用少量蒸馏水快速洗涤,因为 β -CD 与 Ibuprofen 客体分子的包合物微溶于水,所以用蒸馏水洗涤要少量快速,以免影响包合物的产量。过滤后得到 1:1 白色固体包合物(分子量为 1341),于 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 2 小时。取 10 mg β -CD-Ibuprofen 固体溶解于 0.5 mL 重水溶剂中,制成无色澄清透明溶液,用于核磁共振分析。

1.4.3 β -CD 和 Ibuprofen 客体分子包合物的核磁共振分析

所有 NMR 测试都是在 Bruker AVII 600(Bruker Co., Switzerland)核磁共振谱仪上完成。其 ^1H 的共振频率为 600.13 MHz, 梯度场处于 z 方向上, 在所有的测量中, 温度保持在 300.0 K; 试验中 ^1H 90° 脉冲的宽度为 7.60 μs , 化学位移标度参考 TSP 共振, 设定为 0.000 ppm。

DOSY 扩散实验采用 Bruker 公司的标准脉冲序列 ledbpgp2s, 谱宽为 7211.54 Hz, 激发中心为 3000.65 Hz, 弛豫延迟时间(T_1)为 2 s, 累加采样次数为 16, 空采次数为 16, 采用双向梯度脉冲的强度从 2% 分 16 次步进到 95%。脉冲序列中的扩散时间(Δ)及梯度场脉冲宽度(δ)需进行优化以使所选信号强度比例减少到 2%~5%。所得的实验数据处理软件为 Bruker 公司提供的 TopSpin 3.5pl7。通过其中的 DOSY 程序对实验得到的数据进行扩散系数拟合, 进而得到相应的 DOSY 图谱。处理过程中扩散系数维数据点为 2 K, 该维的取值范围($\lg D$)为 -8~10。谱峰所对应的扩散系数值 D 可由该峰的最高点在扩散系数维的投影值($\lg D$)读出并换算而得。

^1H - ^1H ROESY 实验采取 Bruker 公司提供相敏压水峰 roesyphpr 标准脉冲, F2 维采样点数为 2048 点, F1 维采样点数为 256 点, 累加次数为 16 次, 混合时间为 300 ms, 谱宽为 5411.26 Hz, 激发中心为水峰位置 2817.61 Hz, 目的是对谱图中存在的较高的水峰信号进行压制, 提高样品信号信噪比。

2 结果与讨论

通过对 β -CD 包合 Ibuprofen 客体分子前后的氢核化学位移和包合前后扩散系数的变化, 及 ROESY 实验中显示主客体分子相互作用位点的研究, 熟悉核磁共振的基本原理、操作方法; 学习物质结构的解析及如何利用适当的核磁共振技术检测化合物微环境的变化, 以及跟踪反应进程; 归纳总结核磁共振实验在超分子研究领域的重要作用。

2.1 β -CD 包合 Ibuprofen 客体分子前后的 ^1H NMR

氢核的化学位移对 β -CD 包合作用敏感, 是客体分子在 β -CD 中包合的最直接证据。由于构象扭曲、介电常数和客体分子的磁各向异性等原因, 包合物中客体分子和 β -CD 的质子化学位移都会发生变化。溶剂也会影响化学位移, 但 Ibuprofen 分

子不易溶于水, 不利于与有一定水溶性的包合物比较化学位移的变化。因此, 在这里我们研究 β -CD 包合 Ibuprofen 前后相关质子的化学位移变化以确定 Ibuprofen 与 β -CD 所形成包合物的结构。从 β -CD 的三维结构可以看出 H_3 和 H_5 指向疏水的空腔内部。理论上, 如果客体分子 Ibuprofen 与 β -CD 包合并进入疏水空腔, 其苯环结构最易与 β -CD 空腔形成疏水相互作用力, 会使其 H_3 和 H_5 的化学位移明显改变; 并且由于 β -CD 的 H_3 和 H_5 处在苯环的屏蔽区域, 其化学位移会向高场移动。因此 β -CD 的 H_3 和 H_5 化学位移的变化可以作为形成包合物的证据。 β -CD 的 $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_4$ 指向空腔外部, 因此在包合后化学位移应该不会有太大变化, 这与核磁共振氢谱结果完全一致(如图 2 所示)。

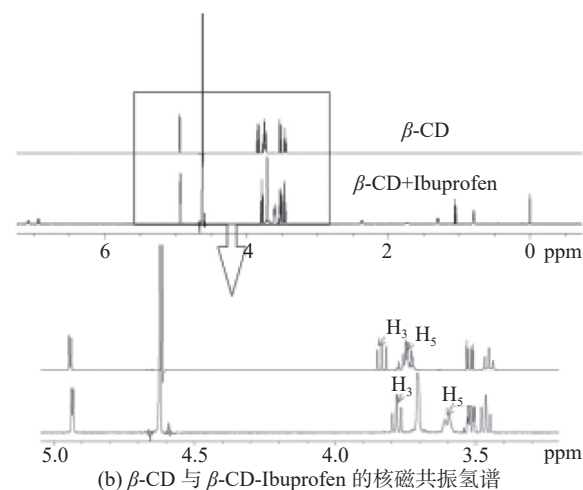
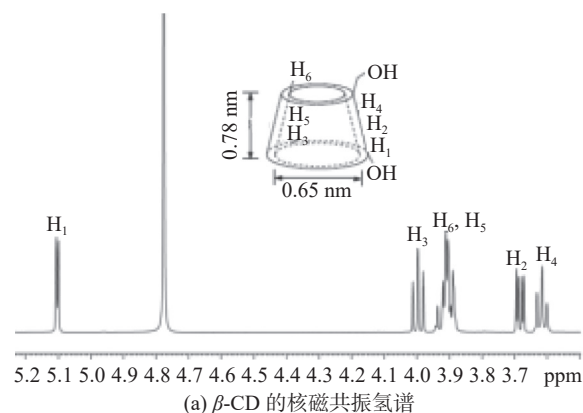


图2 β -CD 与 Ibuprofen 包合前后在重水溶剂中的核磁共振氢谱

2.2 β -CD 与 Ibuprofen 客体分子包合的 DOSY 扩散实验及 ROESY 实验

简单地将 β -CD 与 Ibuprofen 进行物理混合, 两者之间不会形成相互作用力, 也不会改变它们的物理化学性质, 比如 Ibuprofen 在水中的溶解性——

物理混合前后它都不溶于水,因此检测 Ibuprofen 与 β -CD 物理混合物后的 DOSY 扩散实验采用氘代二甲亚砜作溶剂(如图 3 所示),横坐标代表氢谱化学位移,单位为 ppm;纵坐标代表自扩散系数 $\log D$,按对数尺度(m^2/s),这样就可以读出 $\log D$ 的值,比如在图 3 中我们读出 Ibuprofen 的 $\log D$ 值为 $-9.4 \text{ m}^2/\text{s}$, β -CD 的 $\log D$ 值为 $-9.8 \text{ m}^2/\text{s}$ 。相对应地,与 β -CD 包合后的 Ibuprofen 在水中的溶解性明显增加,可直接将 Ibuprofen 与 β -CD 包合物少量溶解于重水溶剂中进行 DOSY 扩散实验(如图 4 所示),从图中看出两者具有一致的自扩散系数 $\log D$ 值为 $-9.5 \text{ m}^2/\text{s}$ 。 β -CD 与 Ibuprofen 在包合前后氢谱的对比(见图 2)以及 DOSY 扩散实验结果都能充分说明 β -CD 与底物分子 Ibuprofen 发生了包合反应。图 5 为 Ibuprofen 与 β -CD 包合物水溶液的 ^1H - ^1H ROESY 谱图, ^1H - ^1H ROESY 谱可以指出空间距离很近(0.5 nm 以内)的质子,为我们提供包合物分子间更具体的作用位点信息,在这里我们只截取了其中部分相关作用信息清晰的区域。图 5 中 $\delta 6.9\text{--}7.1$ 的信号对应于 Ibuprofen 苯环上的两组质子; $\delta 3.5\text{--}3.6$ ($\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_4$) 对应 β -CD 的环外质子, $\delta 3.7\text{--}3.9$ (H_3, H_5) 对应 β -CD 的环内质子。由图可发现, $\delta 6.9\text{--}7.1$ 和 $\delta 3.7\text{--}3.9$ 处的信号间有交叉峰出现,而在 $\delta 6.9\text{--}7.1$ 与 $\delta 3.5\text{--}3.6$ 之间则未发现交叉峰,这表明 Ibuprofen 中的苯环嵌入 β -CD 环内。

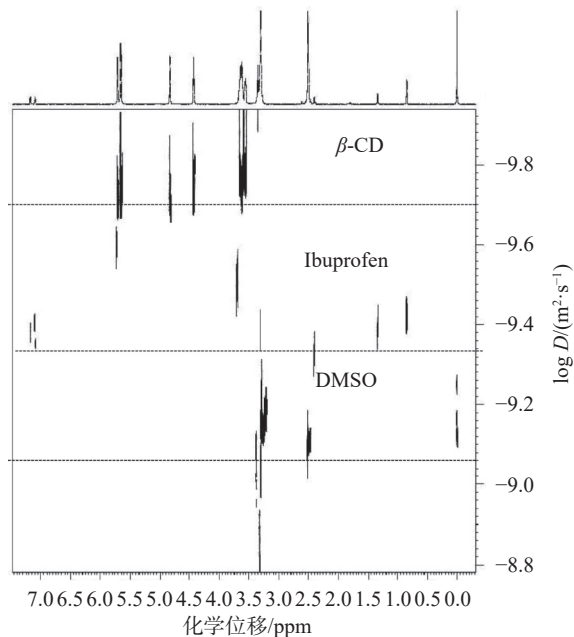


图 3 β -CD 与 Ibuprofen 物理混合物的 DOSY 谱图 (in DMSO)

核磁共振氢谱、碳谱及一些简单的一维谱已经广泛被引入到有机合成的教学和科研中^[10-12],如何利用核磁共振谱学对化合物结构进行解析和相应反应机理的研究已经成为一个合格化学专业学生应掌握的基本技能。本实验以超分子形成过程为实验内容,将核磁共振中两个相对复杂的二维谱 DOSY 及 ROESY 融合进实验教学中,让他们对核磁共振的应用有进一步的认识,特别对超分子形成的条件、主客体相互作用力也会有更深的了解。这一实验不仅让学生学习了新的核磁共振技术,更锻炼了他们如何有效利用仪器资源解决实验中遇到的问题的能力,进一步强化了这些新型仪器在有机化学教学和科研中的重要性。

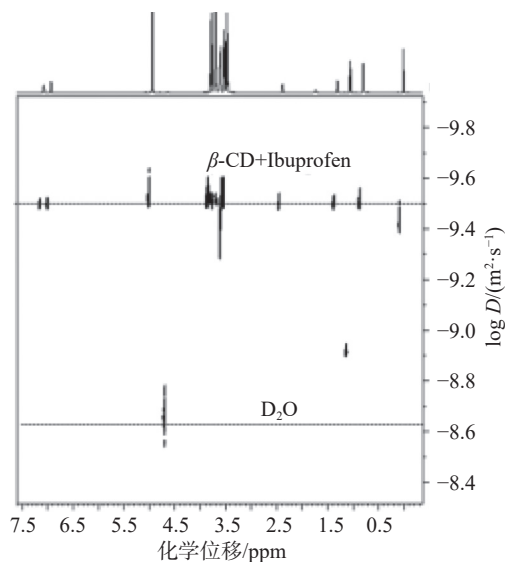


图 4 β -CD 与 Ibuprofen 包合物的 DOSY 谱图 (in D_2O)

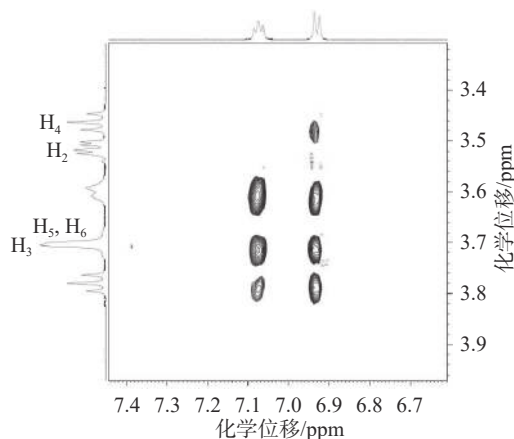


图 5 β -CD 与 Ibuprofen 包合物部分 ROESY 谱图

3 结束语

将前沿研究成果反哺教学在“双一流”建设

过程中显得越来越重要。 β -环糊精作为典型的超分子化合物,其在科学界和工业界的广泛应用使其成为研究的热点。利用核磁技术探索 β -环糊精-布洛芬超分子包合物的制备及其结构这个实验是符合“科教融合,学术育人”需求的。本文将超分子包合物的制备及核磁共振表征设计为教学实验,要求学生能对有机合成及核磁共振基本原理有一定的了解,可在本科高年级逐步开展。四川大学分析测试中心已经连续两学期在化学相关专业本科生创新实验中引入利用核磁共振进行已知物结构指认及对未知物结构推导的实验(课程号:903002020),取得了积极的反馈。学生们普遍认为在实验过程中对超分子的概念、合成、表征和应用的理解有所加深,同时也对分子自组装、分子器件和新型有机材料研究领域的发展通过文献查阅有了较好的掌握。这表明在化学专业本科阶段教学中引入超分子相关实验是有必要的,能为有志于深造的学生奠定扎实的理论和实验基础。

参考文献

- [1] DIAZ D, VARGAS-BACA I, GRACIA-MORA J. β -Cyclodextrin inclusion complexes with Iodine an advanced and inexpensive undergraduate chemistry experiment[J]. Journal of Chemical Education, 1994, 71(8): 708–714.
- [2] STEED J W, ATWOOD J L. 超分子化学[M]. 赵耀鹏, 孙震, 译. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [3] VALERO M, RODRÍGUEZ L J, VELÁZQUEZ M M. Determination of thermodynamic parameters of the cyclodextrin inclusion process an undergraduate physical chemistry[J]. Journal of Chemical Education, 1999, 76(3): 418–419.
- [4] VARNEK A A, DIETRICH B, WIPFF G, et al. Supramolecular chemistry computer-assisted instruction in undergraduate and graduate chemistry Courses[J]. Journal of Chemical Education, 2000, 77(2): 222–226.
- [5] GUZZO T, MANDALITI W, NEPRAVISHTA R, et al. Conformational change in the mechanism of inclusion of ketoprofen in β & cyclodextrin: NMR spectroscopy, AB Initio calculations, molecular dynamics simulations, and photoreactivity[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2016, 120(41): 10668–10678.
- [6] China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010.
- [7] MISHUR R J, GRIFF M E, BATTLE C H. Molecular recognition and enhancement of aqueous solubility and bioactivity of CD437 by β -cyclodextrin[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2011, 21(2): 857–860.
- [8] HAN B, SAKAIRI N. NMR Spectroscopic characterization and inclusion mode of a cyclodextrin-based Glyco-Cluster with antiphlogistic Ibuprofen Sodium Salt[J]. Chemistry Letters, 2018, 47(3): 276–279.
- [9] ZHU G, YU G. Preparation and characterization of a flavor compound inclusion complex in a simple experiment[J]. Journal of Chemical Education, 2019, 96(8): 1714–1718.
- [10] 林沛和. HNMR 在本科基础有机化学实验教学中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2005, 24(6): 76–77.
- [11] STOWE R L, COOPER M M. Arguing from spectroscopic evidence[J]. Journal of Chemical Education, 2019, 96(10): 2072–2085.
- [12] LEON V T. NMR Spectroscopy in an advanced Inorganic Lab: Structural analysis of diamagnetic and paramagnetic Ni(II) schiff base complexes[J]. Journal of Chemical Education, 2019, 96(3): 577–581.

编辑 张俊