竹红菌甲素和乙素及其类似物的电子光谱研究*

第五振军 蒋丽金 张曼华

(中国科学院感光化学研究所, 北京)

摘 要

本文详细研究了 4, 9-二羟基-3, 10 茛醌类化合物的吸收光谱和荧光光谱。证明它们在可见光范围内的三个吸收带分别由茛醌共轭体系的 $\pi\pi^*$ 跃迁和分子内质子传递引起。它们在稀溶液中的荧光光谱是由中性单分子荧光峰和它们进行激发态质子传递后形成的偶极离子的荧光峰组成, 在浓溶液中长波方向的峰是由偶极离子的荧光峰和它们的激基缔合物的荧光峰迭加而成。竹红菌甲素和乙素晶体的荧光峰只有偶极离子和激基缔合物的荧光峰, 而没有发现中性单分子的荧光峰。

关键词: 竹红菌甲素和乙素, 电子光谱, 偶极离子, 激基缔合物

竹红菌甲素 (HA) 和乙素 (HB) 是从竹红菌中分离得到的两种天然色素, 它们是茛醌的衍生物 (图 1), 临床证明它们对许多皮肤病有显著的光疗作用 (例如: 妇女的外阴白色病变, 疤痕疙瘩等)^[1]。最近发现 HA 光动力疗法可抑制肿瘤 (傅乃武等待发表的工作)。类似的色素也曾从其它菌种分离得到过^[2]。虽然刘景瑶等对竹红菌的电子光谱作过研究^[3], 但还有许多问题有待进一步探讨。其它茛醌类色素 (包括 HB) 电子光谱的系统研究还未见报道。本文比较详细地研究了 HA, HB 及其类似物的吸收和发射光谱, 确定了各个峰的归属, 为寻找竹红菌的有效光疗波长范围提供了理论根据。

一、材料和方法

茛和 ν -环糊精: Fluka. AG; 3, 10-茛醌和 4, 9-二羟基-3, 10 茛醌由本室赵开弘提供, 并按照文献[4]进一步纯化, 化合物 8 也由赵开弘提供, 未进一步纯化。十六烷基三甲胺溴化物 (CTAB), AR (北京化工厂)。聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA), AR (北京化工厂)。HA: 竹红菌的氯仿抽提物, 用丙酮重结晶两次, 然后用薄层层析进一步纯化 (1% 柠檬酸硅胶板, 以 30:10:1 石油醚-乙酸乙酯-无水乙醇作展开剂)。HB: 云南微生物研究所粗提品, 我们用薄层

本文 1987 年 8 月 26 日收到, 1988 年 4 月 9 日收到修改稿。

* 国家自然科学基金资助项目。

图 1 芴、芴醌及其衍生物的结构

层析进一步纯化(1%的柠檬酸硅胶板,以 3:1 氯仿-乙酸乙酯作展开剂)。HA 的乙酰化将另文报道。所有溶剂均为国产分析纯级试剂,使用前重蒸一次,测试溶剂的吸收和发射光谱在所研究的波长范围内均无杂质干扰峰。

紫外分光光度计: Hitachi 557 型。荧光分光光度计: Hitachi MPF-4 型(光谱经过校正)。红外分光光度计: Perkin-Elmer-983G 型。核磁共振仪: Varian XL-200 型。

二、结果与讨论

我们将茛、茛醌类化合物的性质列于表1。从表中可以看出4, 5与2, 3相比, 6, 7, 8, 13与14, 15相比醌羰基红外吸收峰均降低了20—40 cm^{-1} , 而且酚羟基质子的化学位移出现在很低场, 表明在4—13这些化合物中酚羟基与醌羰基形成了很强的分子内氢键。6, 7和9的晶体X射线衍射分析为该观点提供了直接的证据^[1c, 5, 6]。

1. 吸收光谱

由于竹红菌的光疗波长是可见光, 所以我们着重研究它在可见光范围内的三个吸收带。从表1可以看出: 6—13在可见光的范围内基本都是三个吸收带(Ia, IIa和IIIa)见图2(a), 图3(a)。Ia带有时可分裂成二个峰, 这与它们的母体化合物4的吸收光谱是一致的。当母体化

表1 茛、茛醌及其衍生物的光谱参数

物质	IR(cm^{-1}) 醌羰基	$^1\text{HNMR}$ (ppm) 酚羟基	吸收峰的位置 (nm) (溶剂: 乙醇)	荧光峰的位置 (nm) (溶剂: 丙酮)
1			364, 388, 408, 436 (环己烷)	442, 467, 500, 543
2	1650		392, 414 (四氢呋喃)	528(四氢呋喃)
3	1670		458	
4	1625		420, 444, 526, 564 (二甲亚砜)	580, 652 (DMF)
5	1630		524, 580 (浓硫酸)	
6	1609	16.04	461, 536, 575 458(肩), 480, 588, 634 (+OH $^-$)	605, 653 677 (+OH $^-$)
7	1610	16.06	462, 548, 590 466(肩), 480, 598, 646 (+OH $^-$)	608, 650 680 (+OH $^-$)
8	1610	15.96	450, 480 (肩), 510(肩), 546, 590 464, 480 (肩), 600, 649 (+OH $^-$)	615, 654 676 (+OH $^-$)
9	1623	14.86	473, 525, 565 480, 595, 640 (+OH $^-$)	618, 675 676 (+OH $^-$)
10	1620	14.93	474, 525, 565	620, 675 678 (+OH $^-$)
11			430, 455, 525, 563	617, 674 676 (+OH $^-$)
21		15.78	475, 540, 580	585, 625 646 (+OH $^-$)
13	1611	15.14	448, 520, 556	614, 654
14	1630		438	564
15	1628		442	578

注: 1. DMF——N, N-二甲基甲酰胺。

2. 化合物9—12的 IR, $^1\text{HNMR}$ 和吸收光谱数据分别来自文献[2], 它们的荧光光谱来自文献[8]。

3. 化合物3, 5的光谱数据来自文献[4]。

4. 作吸收和荧光光谱时色素的浓度控制在 10^{-5} — 10^{-6} mol/L。

合物4上有不同的取代基(6—13)时, 分子的张力变大, 对称性禁阻因素减小, 分子的吸光能力增强^[7]。而母体化合物4Ia带的两个峰又离得比较近, 所以受吸收光谱分辨率的限制, 这两个峰就合二为一了。当我们用碱破坏这些化合物的分子内氢键后, 分子的张力变小, 所以吸光

能力也变小,此时 Ia 带又分裂成两个峰.这一点从 6, 7 和 8 的荧光激发光谱 Ia 带变成两个峰得到了进一步的证实.这是因为激发光谱的检测手段是荧光,由于分辨率的提高,所以, Ia 带的两个峰就可分辨出来. 9—11 也有类似的情况^[8]. 我们比较化合物 1—15, 所有的化合物均有此带,因而我们认为此带是由醌羰基和花核形成的大共轭体系的 $\pi\pi^*$ 跃迁引起的.

图 2 HA 的吸收、激发和荧光光谱

(溶剂:乙醇, $[HA] = 2.4 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; ——为 HA 的吸收光谱 ($\text{pH} = 7.0$), - - - 为 HA 的激发和荧光光谱 ($\text{pH} = 7.0$), ----为 HA 的吸收和荧光光谱 ($\text{pH} = 10.0$))

图 3 HB 的吸收、激发和荧光光谱

(溶剂:乙醇, $[HB] = 2.4 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; ——为 HB 的吸收光谱 ($\text{pH} = 7.0$), - - - 为 HB 的激发和荧光光谱 ($\text{pH} = 7.0$), ----为 HB 的吸收和荧光光谱 ($\text{pH} = 10.0$))

当花环上羟基和羰基不同时存在时, IIa 和 IIIa 就消失了(1, 2, 3, 14 和 15),而且 IIa 和 IIIa 带吸收强度和位置受花环上取代基的影响会更大. 这可能是由于花环取代基的不同造成花环的扭曲程度不同,使花醌的分子内氢键强度不同而影响 IIa 和 IIIa 带的吸收强度和位置.说明这两个带的花醌的分子内氢键密切相关,由此我们认为它们是分子内质子传递的吸收带.这与水杨酸酯和 2-羟基二苯甲酮的吸收光谱有些类似^[9].

根据对 Ia, IIa 和 IIIa 带的归属,可以比较合理地解释为什么用大于 490nm 的光照射 HA 溶液,它不发生自敏光氧化^[10].张曼华等^[10]已经证明 HA 的自敏光氧化是激发态 HA 和基态氧的反应,由于 IIa 带和 IIIa 带是质子传递的吸收带,所以用大于 490nm 的光激发 HA,

它在激发态很快发生质子传递而使激发态的 HA 失活,故不能和氧发生作用。

碱性溶液中化合物 6—13 的 Ia 带仍然存在,而 IIa 和 IIIa 带已不复存在,随之在 640nm 处出现酚阴离子的吸收峰,这是由于碱破坏了这些化合物的分子内氢键,分子内的质子传递已变得不可能了。同样由于在碱性溶液中质子传递过程被阻碍而增加了激发态 HA 的寿命使得激发态 HA 有足够时间跟基态氧反应,从而加速了 HA 的自敏光氧化反应。在酸性溶液中化合物 4—13 的吸收光谱没有任何变化,这是由于酸不足以破坏这些化合物的分子内氢键。

2. 荧光光谱

从表 1 可以看出在稀溶液中,化合物 6—13 均有二个发射带(Ie 和 IIe)见图 2(b),图 3(b)。在酸性溶液中, Ie 和 IIe 带稍蓝移,在碱性溶液中,只有一个发射带。Ie 和 IIe 带的关系可能是:(1)属于同一分子不同振动能级的精细结构。(2)属于侧链的不同立体异构体的发射带。(3)属于醌羰基和酚羟基互变体 A 和 B 的发射带。(4) Ie 是荧光分子的发射带,IIe 带是荧光分子发生激发态质子传递形成的偶极离子 C 或 D 的发射带(图 4)。(5) Ie 是单分子荧光峰,IIe 是它的激基缔合物的荧光峰。Ie 和 IIe 的能量差别比较大,激发光谱和荧光光谱呈非镜像对称以及两个带的不同荧光寿命排除了它们属于同一分子不同振动能级发射带的可能性^[11]。化合物 6 的侧链可有三个异构体¹⁾,化合物 7 和 8 只有两个侧链异构体,化合物 4 没有侧链也就不存在侧链异构的问题了,但它们的荧光光谱却非常相似, Ie 和 IIe 带均存在,说明 Ie 和 IIe 带并不是侧链异构化得到的不同立体异构体的荧光峰。化合物 4 的互变异构体是同一个分子,如果 Ie 带和 IIe 带属于不同互变体发射带的话,化合物 4 就不应该有两个发射带。化合物 9 和 10 是一对互变异构体,它们的荧光光谱极为相似,而且均有 Ie 和 IIe 两个发射带也排除了将 Ie 和 IIe 带归属为不同互变异构体的可能性。我们比较 1—15 的荧光光谱可以

图 4 4,9-二羟基-3,10 萘醌类色素质子传递及位能示意图
(* 示相应分子的激发态)

1) 赵开弘等,第四届全国波谱学学术会议论文摘要集,昆明,1986,B34.

看出: 凡是没有分子内氢键的化合物(2, 3, 14 和 15) I_{le} 带均消失, 在碱性溶液中含有分子内氢键的化合物(6—13)的两个发射带也变成一个在更长波方向的发射带. 这说明 I_{le} 带与分子内氢键密切相关. 我们知道一般激发态羧基的碱性增强, 羟基的酸性增强^[9], HA 激发态时酚羟基的酸性大大增强已被实验所证实^[3b]. 再加上合适的空间位置形成强的分子内氢键就非常有利于激发态的质子传递, 所以我们认为 I_{le} 带是激发态质子传递形成的偶极离子的发射带. 如果我们将 I_{le} 带只归属为偶极离子的荧光峰的话, 却无法解释 I_{le} 带随色素浓度增大而相对于 I_e 带的强度增大, 并且红移的现象. 如果将 I_{le} 带只归属为色素激基缔合物的荧光峰的话, 则无法解释即使色素的浓度很小 ($\sim 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) I_{le} 带仍然存在的现象, 因而我们认为 I_{le} 是偶极离子的荧光峰和激基缔合物的荧光峰迭加的结果. 我们知道激基缔合物的形成与荧光分子的浓度密切相关, 把 I_e 和 I_{le} 的强度比值对 HA 的摩尔浓度作图, 发现它们的比值随浓度的变化存在一拐点, 在不同的溶剂中它的值稍有不同(图 5). 有趣的是: 当溶液中 HA 的浓度大于拐点的浓度时, I_{le} 带随浓度的增大发生红移, 以至当溶液中 HA 的浓度达到 $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时, I_{le} 带在 670nm 处出现一肩峰, 这是 HA 形成的激基缔合物的荧光峰. 当 HA 的浓度小于拐点浓度时, HA 浓度增加 I_{le} 带的位置不发生任何变化. HB 的情况与 HA 相似. 在 CTAB 的分散体系中, 即使在较低的 HA 浓度下, I_{le} 带也可分裂成两个峰(图 6), 这是由于在胶囊中 HA 被相对富集, 所以在较低的分析浓度下就可形成激基缔合物^[12]. 在固体 PMMA 溶液中, 即使 HA 和 HB 的浓度很大, I_{le} 带的强度也并不很大, 而且 I_{le} 带与稀溶液相比并不红移. 这是由于该介质的粘度非常大, 分子的扩散被阻

图 5 浓度对 HA 荧光光谱的影响

(1— CHCl_3 , $\text{CMC} = 6.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), 2— $\left[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2 \right] \text{O}$ ($\text{CMC} = 8.4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$),
3— $2.4 \times 10^{-3} (\text{CHCl}_3)$, 4— 9.0×10^{-4} , 5— 1.2×10^{-2})

止, 从而难于形成激基缔合物^[13]. 更令人惊奇的是: 在晶体中, HA 和 HB 的单分子荧光消失, 而只能观察到偶极离子的峰和激基缔合物的峰, 由于没有溶剂的作用, 晶体中偶极离子的峰蓝移(图 7), 而且使用 II_a 和 III_a 带的激发波长更有利于激发态质子传递, 从而支持了我们将 II_a 和 III_a 带归属为质子传递吸收峰的观点. 我们利用 HA 和 HB 的晶体 X 射线

图6 不同介质中 HA 荧光光谱
 $([HA] = 8.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3})$

图7 HA 和 HB 晶体的荧光光谱
 (---为 $\lambda_{\text{ex}} = 470 \text{ nm}$, ---为 545 nm , —为 585 nm)

衍射分析数据^[1c,5]估算了在 HA 和 HB 的晶体中,两个分子间的距离小于 $3.5 \text{ \AA}$,说明在 HA 和 HB 的晶体中形成激基缔合物是可能的^[13]。虽然在稠环芳烃的晶体中已经普遍地观察到它们的激基缔合物^[13],但在它们醌的晶体中观察到激基缔合物的形成还比较少见。

综上所述,我们可以得到下面几个结论:

(1) 4,9-二羟基-3,10-萘醌类化合物在可见光范围内有三个强的吸收带,短波方向的一个吸收带是由萘醌共轭体系的 $\pi\pi^*$ 跃迁引起的,长波方向的两个吸收带是分子内质子传递的结果。

(2) 4,9-二羟基-3,10-萘醌类化合物在稀溶液中均有两个荧光发射带,短波方向的发射带属于中性分子的荧光峰,长波方向的发射带属于中性分子进行激发态质子传递后形成的偶极离子的荧光峰。在 HA 和 HB 的溶液中,当其浓度大到一定程度时,长波方向的发射带由偶极离子的荧光峰和激基缔合物的荧光峰共同组成。在固体溶液中,它们很难形成激基缔合物。

(3) 在 HA 和 HB 的晶体中,只能观察到激发态质子传递形成的偶极离子的荧光峰和它们形成的激基缔合物的荧光峰,而不能观察到 HA 和 HB 中性分子的荧光峰。另外它们的荧光光谱还受激发波长的影响。

参 考 文 献

- [1] a) 梁睿媛等,中华皮肤科杂志,15(1982),87—88;b) 万象义、陈远腾,科学通报,25(1980),1148—1149;c) Chen, W. S. et al., *Liebigs Ann. Chem.*, 1981, 1880—1885; d) 万象义、张尉玲、王启方,云南大学学报,7(1985),461—464.
- [2] a) Yamazaki, S. and Ogawa, T., *Agric. Biol. Chem.*, 36(1972), 1707—1718; b) Lousberg, R. J. J. Ch. et al., *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 1219—1226; c) Arone, A., Camerda Nasini, G. and Merlini, L., *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 1985, 1387—1392.
- [3] a) 刘景瑶、张曼华、安静宜,感光科学与光化学,1986,1: 36—41;
 b) 刘景瑶,科学通报,30(1985),1077—1080.
- [4] Fatiadi, A. J., *J. Res. Nat. Bur. Stand.*, A72(1968), 1: 39—47.

- [5] 梁丽、竺酒珏、张曼华, 科学通报, **32**(1987), 56—59.
- [6] Nasini, G. et al., *Tetrahedron*, **38**(1982), 2787—2796.
- [7] Lianos, P. and Georgiou, S., *Photochem. Photobiol.*, **30**(1979), 355—362.
- [8] Wolfbeis, O. S. and Förlinger, *Mikrochim. Acta*, **III** (1983), 385—398.
- [9] Klöpffer, W., *Adv. Photochem.*, **10**(1977), 311—358.
- [10] 张曼华等, 科学通报, **29**(1984), 1117—1120.
- [11] Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York, 1983, 7—9.
- [12] Förster, T. and Selinger, B., *Z. Naturforsch.*, **A19** (1964), 39.
- [13] Birks, J. B., *Progress in Reaction Kinetics* (Eds. Porter, G. et al.), Vol. 5, Pergamon Press, Oxford, London, Edinburgh, New York, 1970, 181—272.