

УДК 543.42.062+544.77+547.633.6

ВЛИЯНИЕ БЕТА-ЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ДИССОЦИАЦИЮ 2,7-ДИХЛОРФЛУОРЕСЦЕИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

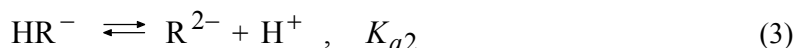
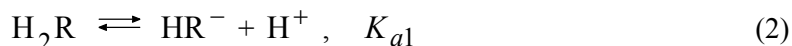
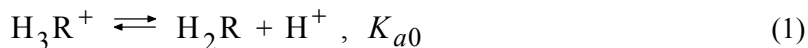
© 2005 Л. Н. Вилкова, Н. А. Водолазкая, Н. О. Мчедлов-Петросян

Добавка β -циклодекстрина (β -ЦД) изменяет положение протолитического равновесия 2,7-дихлорфлуоресцеина в водном растворе. Значения pK_{a0} , pK_{a1} и pK_{a2} , характеризующие ступенчатое равновесие $H_3R^+ \rightleftharpoons H_2R \rightleftharpoons HR^- \rightleftharpoons R^{2-}$, изменяются различным образом при введении 0.01 моль/л β -ЦД в водный раствор красителя с ионной силой 0.05 моль/л: значение pK_{a0} снижается на 0.8 ед., значение pK_{a1} повышается на 0.5 ед., а значение pK_{a2} практически не изменяется. Показано, что главной причиной такого характера изменений является преимущественное связывание нейтральной формы 2,7-дихлорфлуоресцеина гептаамилозной полостью, о чем свидетельствует резкий сдвиг таутомерного равновесия молекул H_2R от окрашенного хиноида к бесцветному лактону.

Как известно, введение супрамолекул в водные растворы может оказывать заметное влияние на положение химических равновесий [1-3]. Удобными объектами для исследования свойств организованных растворов являются различные индикаторные красители, спектральные и кислотно-основные свойства которых чувствительны к природе микроокружения.

Поскольку гидроксиксантеновые красители обладают ценными фотофизическими и фотохимическими свойствами и достаточно хорошо исследованы в воде, водно-органических смесях, мицеллярных растворах ПАВ, а также в прямых и обращенных микроэмульсиях [4-8], мы изучили влияние β -циклодекстрина (β -ЦД) на протолитические равновесия 2,7-дихлорфлуоресцеина в водном растворе.

Предварительные спектрофотометрические исследования показали, что ионизация этого индикатора в водном растворе происходит, как и в случае флуоресцеина, в три ступени:



Нами использован препарат 2,7-дихлорфлуоресцеина фирмы Apolda, Германия без дополнительной очистки. Этот краситель ранее уже исследовался в нашей лаборатории [5-7]. Препарат β -ЦД (>99%) фирмы Fluka использовали без дополнительной очистки.

Для определения констант ионизации (в рассматриваемом случае приравненных к константам диссоциации) использовался спектрофотометрический метод [4-8]. Спектры измеряли на приборе СФ-46 в односантиметровых кюветах. Для варьирования значений рН применяли боратные, фосфатные, ацетатные и бифталатные буферные растворы, а также разбавленные растворы HCl. При определении pK_{a1} и pK_{a2} ионная сила рабочих растворов поддерживалась постоянной и равной 0.05 моль/л (буфер+NaCl), а значение pK_{a0} определяли при переменной ионной силе, создаваемой растворами HCl. Для измерения спектров поглощения катионной формы красителя H_3R^+ применяли концентрированные растворы HCl (3 и 10 моль/л). Значения рН определяли при 25 °С с помощью стеклянного электрода в цепи с переносом, градуированной по стандартным буферным растворам (1.68, 4.01, 6.86 и 9.18).

При исследовании равновесий в водном растворе β -ЦД рабочая концентрация красителя была $6 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Для расчетов значений pK_a использовались значения оптической плотности в диапазоне длин волн $\lambda = 430-530$ нм (21 значение λ), измеренные при 25 °С для 14 рас-

творов с различными рН. Спектр дианиона R^{2-} измерен при рН = 10. Расчет значений pK_{a1} и pK_{a2} проведен совокупно с коэффициентами молярного поглощения (ϵ) моноаниона HR^- на основании измерений в области рН 2.0 ÷ 8.0, с использованием, как и ранее [6, 8], программы CLINP. Значение pK_{a0} определено изолированно, из измерений в области рН 0 ÷ 1.0. Спектр формы H_2R окончательно уточнялся из измерений в области рН максимального выхода молекулярной формы, с использованием всех трех значений pK_a [4, 6, 8]. Спектры молекулярной и ионных форм в водном растворе β -ЦД представлены на рис. 1.

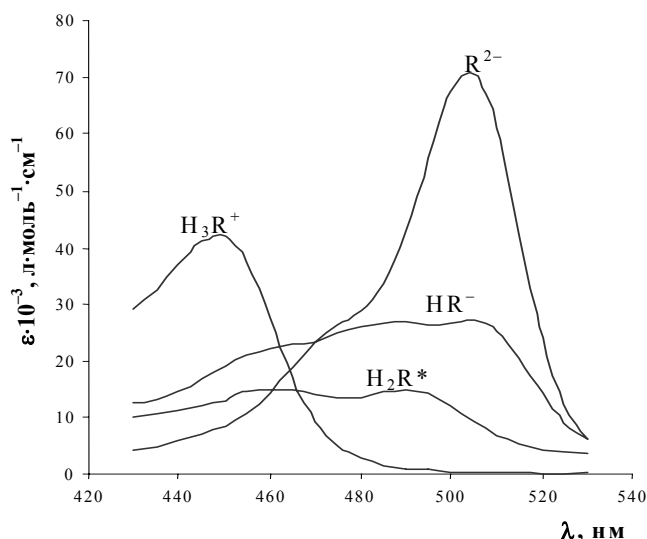


Рис. 1. Спектры поглощения молекулярной и анионных форм 2,7-дихлорфлуоресцеина в водном растворе β -циклодекстрина (0.01 моль/л) при ионной силе 0.05 моль/л (буфер+NaCl); спектр H_3R^+ измерен в высококонцентрированных растворах HCl, без β -ЦД; * значения ϵ (H_2R) увеличены в 5 раз.

Значения параметров ионных равновесий 2,7-дихлорфлуоресцеина в воде и в растворах β -циклодекстрина представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние 0.01 моль/л β -циклодекстрина на значения параметров ионных равновесий 2,7-дихлорфлуоресцеина в водном растворе при ионной силе 0.05 моль/л (25 °С)

Константа	0.01 моль/л β -ЦД	Без добавки β -ЦД [5, 9-11]	Разность
pK_{a0}	$-0.33 \pm 0.12^*$	0.44 ± 0.05	-0.77
pK_{a1}	4.40 ± 0.05	3.91 ± 0.10	+0.49
pK_{a2}	4.91 ± 0.04	4.93 ± 0.06	-0.02
$pK_{0,OH}$	0.62	0.92	-0.30
$pK_{1,COOH}$	3.45	3.43	0.02
$pK_{2,OH}$	4.91	4.93	-0.02

* ионная сила превышает 0.05 моль/л.

Значения pK_{a0} , pK_{a1} и pK_{a2} , характеризующие ступенчатое равновесие, изменяются различным образом при введении 0.01 моль/л β -ЦД в водный раствор красителя. Значение pK_{a2} практически не изменяется. По-видимому, из этого можно сделать вывод о том, что если

связывание сопряженных форм R^{2-} и HR^- 2,7-дихлорфлуоресцеина полостью β -ЦД и имеет место, то происходит оно не с фрагментом, включающим диссоциирующую гидроксильную группу, а с кольцом, содержащим карбоксильную группу. Повышение значения pK_{a1} на 0.5 ед. и понижение pK_{a0} на 0.8 ед. по сравнению с таковыми в воде свидетельствуют о преимущественном связывании и дополнительной стабилизации нейтральной формы 2,7-дихлорфлуоресцеина гептаамилозной полостью.

В таблице 2 приведены значения спектральных характеристик ионов и молекул 2,7-дихлорфлуоресцеина в воде и в водном растворе β -циклодекстрина.

Таблица 2. Значения спектральных характеристик ионов и молекул 2,7-дихлорфлуоресцеина в водном растворе и в присутствии β -циклодекстрина

Ион (молекула)	λ_{\max} , нм ($\epsilon_{\max} \cdot 10^{-3}$, л·моль ⁻¹ ·см ⁻¹)	
	В присутствии 0.01 моль/л β -ЦД	В отсутствие β -ЦД [5,6, 9-11]
H_3R^+	450 (44.95)*	450 (44.95)
H_2R	460 (3.00); 490 (2.98)	460 (8.96); 485 (8.70)
HR^-	490 (26.75); 504 (27.02)	465–470 (24.1); 490 (28.3)
R^{2-}	504 (72.62)	502 (75.02)

* измерено в высококонцентрированных растворах HCl, без β -ЦД.

Изменения спектральных характеристик индикатора в присутствии 0.01 моль/л β -ЦД по сравнению с водой наблюдаются для форм R^{2-} , HR^- и H_2R красителя. Это указывает на вероятное связывание этих форм полостью β -ЦД и согласуется с параметрами ионных равновесий 2,7-дихлорфлуоресцеина в изученной системе. В работе [1] при рассмотрении взаимодействия ионов R^{2-} ряда гидроксиксантеновых красителей с α -, β - и γ -циклодекстринами предлагаются два различных типа связывания этих индикаторов полостью супрамолекулы: 1) связывание ксантеновой части и 2) связывание фрагмента, содержащего карбоксильную группу.

Схема 1 описывает протолитические равновесия флуоресцеиновых красителей в растворах [4-11]. Обнаружено, что переход от воды к средам, содержащим супрамолекулы, приводит к заметному гипохромному эффекту лишь для нейтральной формы H_2R (табл.2), как и в случае водно-органических смесей, мицеллярных растворов ПАВ и микроэмульсий [4-11]. Аналогичный эффект наблюдается для флуоресцеина в водных растворах β -ЦД [12]. Возможность существования бесцветной лактонной структуры для молекулярной формы флуоресцеиновых красителей бесспорна [4, 6, 11], и речь идет, следовательно, о сдвиге положения таутомерного равновесия,

Судя по полученным спектральным характеристикам молекулярной и ионных форм 2,7-дихлорфлуоресцеина в растворах β -ЦД (рис.1), можно предположить существование катиона в растворе в виде структуры I, нейтральной формы – в виде равновесной смеси хиноида III и бесцветного лактона IV, причем характер спектра H_2R не дает оснований предполагать наличие в растворах β -ЦД цвиттер-ионной частицы II, ввиду отсутствия дополнительного поглощения в области $\lambda_{\max}(H_3R^+)$. В случае производных флуоресцеина, содержащих атомы галогенов в положениях 2, 4, 5 и 7, существование цвиттер-иона маловероятно, так как кислотность групп OH существенно усиливается. Спектр формы HR^- близок по форме спектру H_2R , следовательно, для 2,7-дихлорфлуоресцеина в растворах β -ЦД, как и в воде [9-11], структура V преобладает над структурой VI.

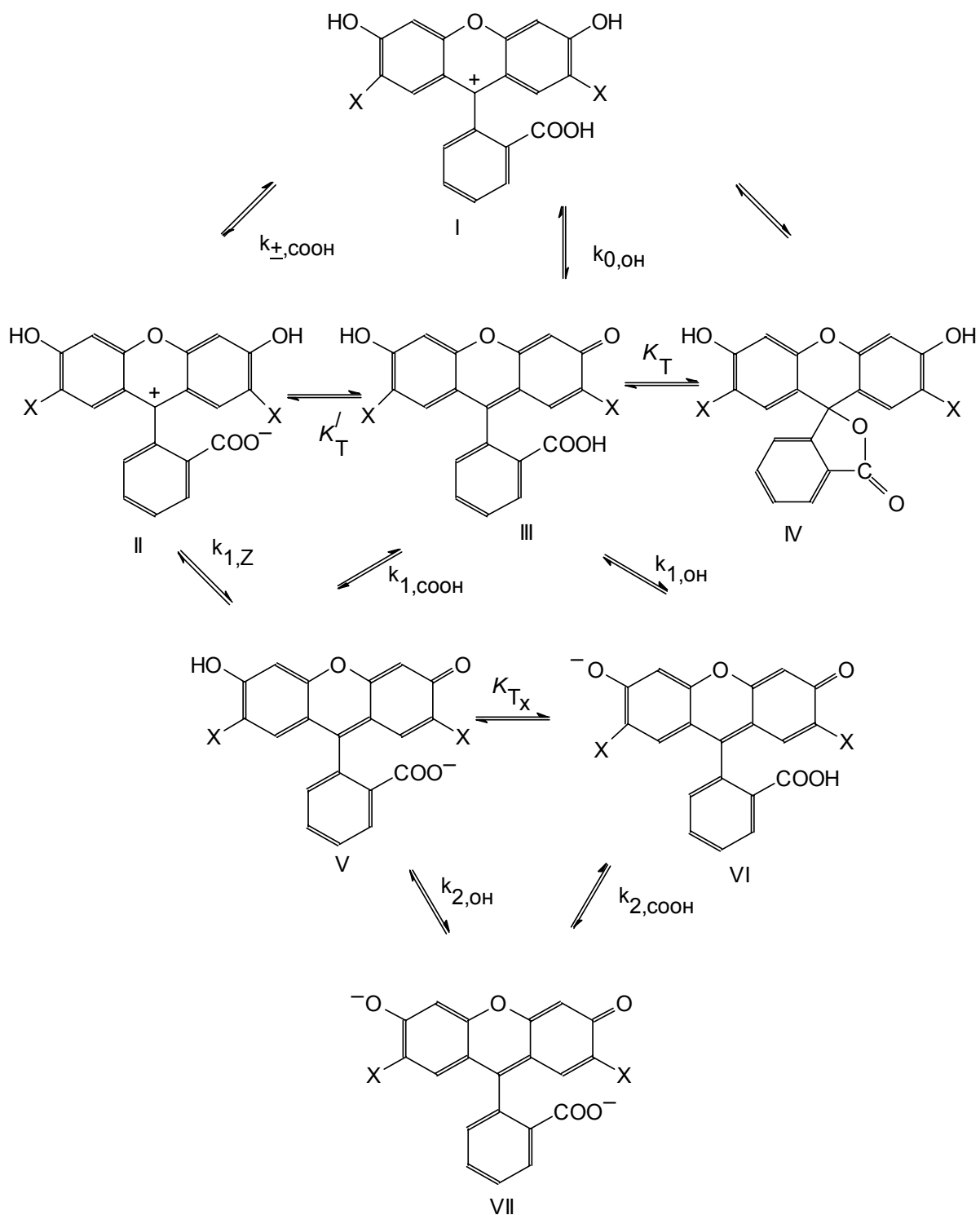


Схема 1. Протолитическое равновесие флуоресцеина (X=H) и 2,7-дихлорфлуоресцеина (X=Cl).
 $K_T = [IV] / [III]$; $K_T^I = [II] / [III]$; $K_T^{II} = K_T / K_T^I = [IV] / [II]$; $K_{T_x} = [VI] / [V]$;
 $k_{\pm,COOH} = a_{H^+}^* a_{II} / a_I$; $k_{0,OH} = a_{H^+}^* a_{III} / a_I$; $k_{1,Z} = a_{H^+}^* a_V / a_{II}$; $k_{1,COOH} = a_{H^+}^* a_V / a_{III}$;
 $k_{1,OH} = a_{H^+}^* a_{VI} / a_{III}$; $k_{2,OH} = a_{H^+}^* a_{VII} / a_V$; $k_{2,COOH} = a_{H^+}^* a_{VII} / a_{VI}$.

Расчет долей таутомеров (α) формы H_2R 2,7-дихлорфлуоресцеина проводили по уравнению (4) [4, 6, 8-11]:

$$\varepsilon(H_2R) = \alpha(II) \cdot \varepsilon(H_3R^+) + \alpha(III) \cdot \varepsilon(HR^-), \quad (4)$$

которое превращается в систему уравнений при использовании спектральных данных, полученных на длинах волн 460 - 490 нм. Это уравнение справедливо, если приравнять значения ε таутомеров II и III значениям ε форм H_3R^+ (структура I) и HR^- (структура V), соответственно. При этом $\alpha(IV) = 1 - \alpha(II) - \alpha(III)$. Для растворов β -ЦД нами получено: $\alpha(III) = 0.112$ и $\alpha(IV) = 0.888$, при условии, что доля таутомера II пренебрежимо мала. Отсюда легко рассчитать значения обозначенных на схеме 1 констант таутомерного равновесия и микроконстант диссоциации (k). Связь этих параметров с константами K_a выражается соотношениями при ($K_T' \ll K_T$):

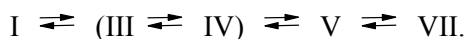
$$pK_{a0} = pk_{0,OH} - \lg(1 + K_T) \quad (5)$$

$$pK_{a1} = pk_{1,COOH} + \lg(1 + K_T) \quad (6)$$

$$pK_{a2} = pk_{2,OH} \quad (7)$$

Значение K_T для 2,7-дихлорфлуоресцеина в растворах β -ЦД составляет 8.1 ± 0.2 , а в воде – 2.0 [9-11]. Значения микроконстант, полученные с помощью уравнений (5-7), представлены в таблице 1. Понижение значения $pk_{0,OH}$ 2,7-дихлорфлуоресцеина в растворе, содержащем β -ЦД, доказывает связывание и стабилизацию хиноидного таутомера нейтральной формы (III) полостью β -ЦД, а повышение значения K_T в 4 раза по сравнению с величиной K_T в воде свидетельствует о сдвиге таутомерного равновесия в сторону лактонной структуры (IV).

Таким образом, в ходе ступенчатой диссоциации в водном растворе 2,7-дихлорфлуоресцеина с добавкой β -ЦД реально существуют следующие частицы:



Литература

1. Flamigni L. J.Phys.Chem. 1993. V. 97. No. 38. P. 9566-9572.
2. Kuwabara T., Takamura M., Matsushita, Ikeda H., Nakamura A., Ueno A., Toda F. J.Org.Chem. 1998. V. 63. No. 24. P. 8729-8735.
3. Funasaki N. Вестник Харьк. нац. университета. 2002. № 549. Химия. Вып. 8 (31). С. 7-14.
4. Мchedlov-Петросян Н.О. Журн. аналит. химии. 1979. Т. 34. № 6. С. 1055-1059.
5. Mchedlov-Petrossyan N.O., Rubtsov M.I., Lukatskaya L.L. Dyes and Pigments. 1992. V. 18. P. 179-198.
6. Mchedlov-Petrossyan N.O., Kleshchevnikova V.N. J.Chem.Soc., Faraday Trans. 1994. V. 90. No. 4. P. 629-640.
7. Mchedlov-Petrossyan N.O., Kukhtik V.I., Bezugliy V.D. J.Phys.Org.Chem. 2003. V. 16. P. 380-397; and references cited therein.
8. Саламанова Н.В., Водолазкая Н.А., Мchedlov-Петросян Н.О. Вестник Харьк. нац. университета. 2003. № 596. Химия. Вып. 10 (33). С. 137-141.
9. Мchedlov-Петросян Н.О., Васецкая Л.В. Журн. общ. химии. 1989. Т. 59. Вып.3. С. 691-703.
10. Мchedlov-Петросян Н.О. Вестник Харьк. нац. университета. 2004. № 626. Химия. Вып. 11 (34). С. 221-312.
11. Мchedlov-Петросян Н.О. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. Харьков: Издательство Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, 2004. 326 с.
12. Buvari A., Warcza L., Kajtar M. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1988. II. P. 1687-1690.

Поступила в редакцию 5 августа 2005 г

Kharkov University Bulletin. 2005. № 669. Chemical Series. Issue 13(36). L. N. Vilkova, N.A. Vodolazkaya, N.O. Mchedlov-Petrosyan. The influence of beta-cyclodextrin on dissociation of 2,7-dichlorofluorescein in aqueous solution.

The addition of β -cyclodextrin changes the state of protolytic equilibrium of 2,7-dichlorofluorescein in aqueous solution. When 0.01 mol dm^{-3} of β -cyclodextrin is added to the solution with the ionic strength 0.05 mol dm^{-3} , parameters pK_{a0} , pK_{a1} , and pK_{a2} , characterizing the stepwise equilibrium $\text{H}_3\text{R}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{R} \rightleftharpoons \text{HR}^- \rightleftharpoons \text{R}^{2-}$ undergo different changes. The pK_{a0} value decreases by ca. 0.8 units, the pK_{a1} value increases by ca. 0.5 units, while the pK_{a2} value remain practically unaffected. It is demonstrated that the main reason for this effect is preferential binding of the neutral species of 2,7-dichlorofluorescein by the heptaamilose cage. This explanation is strongly supported by the observed marked shift of the tautomeric equilibrium of H_2R molecules from colored quinonoid to colorless lactone.