

羟丙基壳聚糖接枝聚乳酸的合成与表征

于建香, 杨武芳, 王小瑜, 管中源, 姚天宇

(北京石油化工学院材料科学与工程系, 北京 102617)

摘要:以壳聚糖与 1,2-环氧丙烷为原料,以四甲基氢氧化铵为催化剂合成羟丙基壳聚糖(HPCS),之后丙交酯与羟丙基壳聚糖以不同的比例以钛酸四丁酯(Ti(OBu)₄)等为催化剂,在二甲基亚砜中合成羟丙基壳聚糖接枝聚乳酸(HPCS-g-PLLA)。用红外光谱(FT-IR)、核磁共振(¹H-NMR)、X 射线衍射(XRD)和热失重分析(TG)测试等手段对接枝共聚物的物理及化学性质进行了表征,壳聚糖接枝后其结晶性降低,热分解温度从 281 ℃降低到 212 ℃。溶解性实验表明,羟丙基壳聚糖接枝聚乳酸在二甲基亚砜等有机溶剂中有很好的溶解性。

关键词:壳聚糖; L-丙交酯; 两亲性; 接枝共聚

中图分类号: O636

文献标识码: A

文章编号: 1000-7555(2013)08-0001-04

壳聚糖(CS)和聚乳酸(PLA)是性能优良的生物材料,在生物医药领域具有很好的应用前景。已有大量科学工作者研究证明,壳聚糖具有广谱抗菌性,是药物的良好载体,并且具有缓释、长效的特点^[1~3]。聚乳酸是一种重要的脂肪族聚酯类生物降解材料,具有良好的生物相容性,被广泛用作组织工程、人体器官、药物控制释放、仿生智能等材料。

壳聚糖由于分子内和分子间的氢键作用,使其呈紧密的晶态结构,体液及肠道内 pH 均为中性、偏碱性,壳聚糖在生理条件下难以溶解,体内运输过程中容易沉淀,影响制剂在组织内的分布,从而限制了其在生物医药领域的广泛应用,为此研究人员对壳聚糖进行化学改性^[4~9],以提高其水溶性,实现对难溶药物的增溶。在各种改性方法中,接枝共聚改性是壳聚糖改性中重要且实用的方法。虽然接枝壳聚糖的物理化学性质发生了一定的变化,但是其粘附性、生物相容性和生物可降解性仍能保持。本文通过糖基化改性聚乳酸,合成的材料在具有良好的物理和力学性能及可塑性的基础上,兼具了天然的生物大分子材料和合成聚合物材料的优良性能,旨在拓展其作为生物医学材料的应用领域。

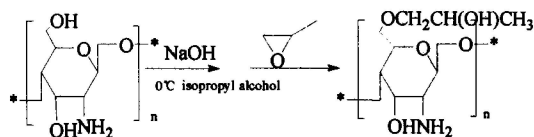
1 实验部分

1.1 实验试剂

L-丙交酯(LLA):购于济南岱罡生物工程有限公司;壳聚糖(CS)、钛酸四丁酯(Ti(OBu)₄)、辛酸亚锡、三乙基胺、四甲基氢氧化铵:分析纯,购于北京化学试剂公司。

1.2 羟丙基壳聚糖(HPCS)的制备

将 2.2g CS 与 20 mL 异丙醇混合,室温下搅拌 30min,加入 33% 氢氧化钠水溶液 2.0g 充分碱化,搅拌 60min,冷藏过夜。加入 1 mL 四甲基氢氧化铵和 20 mL 环氧丙烷,室温下搅拌反应 60min,然后在 60 ℃回流 8h。抽滤,滤饼用丙酮浸泡洗涤,抽滤得到黄色粉末。产物用适量去离子水溶解,调 pH 至中性,抽滤,滤液浓缩,在冰水浴中用过量的丙酮沉淀,抽滤干燥得到黄色块状产物 2.70g,产率 90%。反应式如 Scheme 1 所示。



Scheme 1 Synthesis of HPCS

1.3 羟丙基壳聚糖接枝聚乳酸(HPCS-g-PLLA)的制备

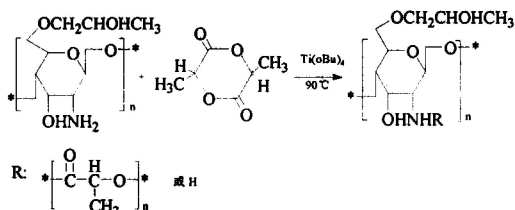
在三口圆底烧瓶中加入定量 HPCS 和二甲基亚砜,加入定量 LLA 及钛酸四丁酯 1.2×10^{-5} mol

收稿日期: 2012-11-13

基金项目:北京市优秀人才培养资助项目(2012D005005000005);北京石油化工学院国家级大学生创新创业训练计划项目(2013J00016)

通讯联系人:于建香,主要从事天然高分子改性的研究, E-mail: yujianxiang@bipt.edu.cn

(0.04g)。90 °C 氮气保护反应 24h。冷却至室温, 混合物在冰乙酸乙酯中沉淀, 过滤, 产物用乙酸乙酯充分洗涤, 再以乙酸乙酯为溶剂抽提 4h 以除去聚乳酸均聚物。产物于 40 °C 真空干燥 24h。得到暗红色产品。用乙酸乙酯抽提 6h 纯化, 反应式如 Scheme 2 所示:



Scheme 2 Synthesize of HPCS-g-PLLA

1.4 分析表征

1.4.1 红外光谱分析: 采用美国 Nicolet 380 FT-IR 型傅里叶变换红外光谱仪, KBr 压片法。

1.4.2 ¹H-NMR 分析: 采用德国 Bruker DMX500 型核磁共振仪, 以 TMS 为内标, 以 DMSO-d₆ 为溶剂。

1.4.3 热失重分析: 采用 Setaram Labsys 热分析仪, 法国 Setaram 公司, 测试温度范围为 25 °C~ 600 °C, 加热速率为 10 °C/min, 氮气气氛, 试样质量 10mg 左右。

1.4.4 XRD 测试: 采用德国 BRUKER D8FOCUS 型

多晶 X 射线衍射仪, Cu 靶, 加速电压 40 kV, 扫描范围 2θ= 5°~ 80°, 扫描速度 8°/min, 扫描步长为 0.02°。

1.4.5 溶解性实验: 分别以蒸馏水、氯仿、NMP、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、石油醚、异丙醇、丙酮、二甲基亚砜(DMSO)为溶剂, 在试管中考察 HPCS 以及 HPCS-g-PLLA 室温下的溶解性能。

2 结果与讨论

2.1 HPCS-g-PLLA 的制备反应

壳聚糖的羟丙基化是典型的亲核加成机理, 该反应体系以异丙醇为溶剂具有碱化效果好, 反应容易进行的优点。C6 的羟基的位阻小于 C3 的羟基位阻, 反应活性更大, 通过对壳聚糖的羟丙基化改性破坏了壳聚糖的结构规整性、降低了氢键的作用, 降低了壳聚糖的结晶性, 从而有效地改善了壳聚糖在水中的溶解性^[10]。

以钛酸四丁酯为催化剂, 引发丙交酯开环聚合生成乳酸链段, 乳酸链段与壳聚糖的胺基发生缩合反应。与四氯化钛、氯化锂等催化剂相比, 钛酸四丁酯为催化剂的反应可以有效降低丙交酯在聚合过程中外消旋的发生^[8]。Tab. 1 为不同物质的量比的 HPCS 和 LLA 接枝聚合时, 所得产物的接枝率及产量。

Tab. 1 The Preparation Parameters of HPCS-g-PLLA

Sample	<i>m</i> (HPCS) (g)	<i>m</i> (LLA) (g)	Yield(g)	Grafting efficiency (%) ^a	<i>n</i> (LLA)/ <i>n</i> (HPCS) ^b
HPCS-g-PLLA2	0.40	0.36	0.53	31.77	0.97
HPCS-g-PLLA5	0.40	0.90	0.67	67.73	2.07
HPCS-g-PLLA10	0.40	1.79	0.78	95.44	2.92
HPCS-g-PLLA15	0.40	2.68	0.85	111.50	3.41

a: grafting efficiency was calculated by following formula: $G = \frac{W-M}{M}$ (*G*—graft efficiency(%); *W*—mass of graft copolymer(g);

M—mass of HPCS(g); b: $n(\text{LLA})/n(\text{HPCS}) = G\% \times 220/72$)

由 Tab. 1 可知, 随着 LLA 和 HPCS 物质的量比从 2: 1 增加到 15: 1, 接枝率相应由 31.77% 上升至 111.50%, 同时接枝共聚物中乳酸的物质的量比也从 0.97 增加到 3.41。乳酸侧链增长。

2.2 FT-IR 分析

样品的红外谱图如图 1 所示。HPCS 的谱图在 2997.89 cm⁻¹ 和 2913.45 cm⁻¹ 处的吸收峰与 CS 相比明显增强, 其中 2997.89 cm⁻¹ 处的吸收为 -CH₃ 质子的反对称伸缩振动吸收峰, 2913.45 cm⁻¹ 处为 -CH₂ 的对称伸缩振动吸收峰; 在 1313.15 cm⁻¹ 处出现了明显的 C-O-C 伸缩振动吸收: 说明羟丙基接枝到壳聚糖上。与 HPCS 相比, HPCS-g-PLLA5 在 1745.94 cm⁻¹ 处出现了新的 C=O 的伸缩振动吸收峰, 1195.68

cm⁻¹ 和 1012.87 cm⁻¹ 处为 C-O-C 键的伸缩振动吸收峰, 这表明聚乳酸侧链接枝到壳聚糖糖环上。

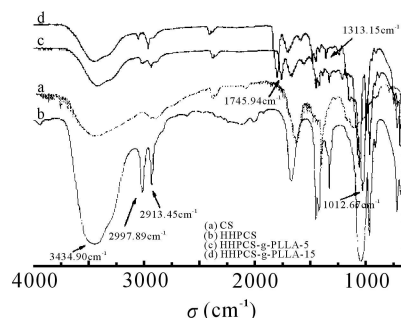


Fig. 1 FT-IR Spectra for Different Samples

2.3 ¹H-NMR 分析

Fig. 2 为 HPCS-g-PLLA5 的 ¹H-NMR 谱图。图中

各相关化学位移的归属^[9]为: δ 7.666(s, 2H, NH₂), δ 7.255(s, ¹H, NH), δ 3.473(H2), δ 3.993(H6), δ 4.183(H3), δ 4.950(H5), δ 5.076(H1), δ 5.304(H4)。同时在 δ 4.495、 δ 5.493 及 δ 1.214 至 δ 1.423 处出现了新的化学位移, 为乳酸侧链及其重复单元上次甲基质子的位移。 δ 1.966 和 δ 2.066 处的位移为乳酸侧链上亚甲基质子的位移。 δ 2.528 附近的位移均为溶剂 DM-SO-d₆ 溶剂的位移。由此说明聚乳酸疏水性侧链成功接枝到壳聚糖主链上。

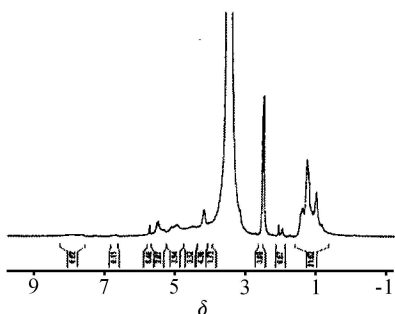


Fig. 2 ¹H-NMR Spectrum of HPCS-g-PLLA5

2.4 XRD 分析

Fig. 3 所示为壳聚糖和共聚物的 X 射线衍射图。CS 在 2θ 为 10° 、 20.5° 和 44.5° 有 3 个明显的特征衍射峰, 这是因为壳聚糖分子中大量的 -OH 和 -NH₂ 所形成的氢键提高了分子结构的规整性, 结晶性能好。HPCS 的 2θ 角度降至 19° 、 44° 附近, 并且相应的衍射峰有明显的变弱, 尤其是 2θ 为 10° 处的衍射峰几乎消失, 20° 附近处的衍射峰变宽, 其主要原因可能是壳聚糖经过羟丙基化后结晶结构减少, 无定型结构增加。c 和 d 为接枝共聚物的衍射图, 通过与 a 和 b 对比, 可以看出接枝共聚物在 44.5° 处没有明显衍射峰, 仅在 2θ 为 20° 附近有较弱的衍射峰。

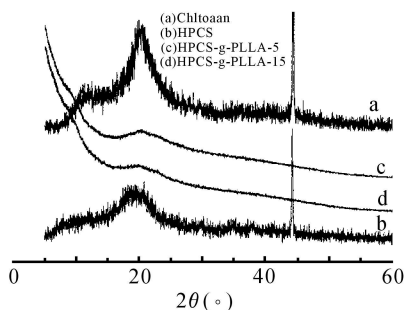


Fig. 3 X-Ray Diffraction Patterns of Different Sample

2.5 热性能分析

Fig. 4 为壳聚糖、羟丙基化壳聚糖及接枝共聚物的热失重曲线。对比 CS, HPCS 的热分解温度下降, CS 开始热解的温度为 281°C , HPCS 的热分解温度为

234°C , 这可能是羟丙基的引入不仅破坏了氢键作用, 还降低了裂解所需的活化能。由图可见共聚物的热分解温度低于 HPCS, HPCS-g-LLA 的热分解温度为 212°C , 是由于聚乳酸的引入使得裂解温度下降。同时 HPCS-g-LLA15 的裂解温度比 HPCS-g-LLA5 的更低, 说明其引入的乳酸链段较长。

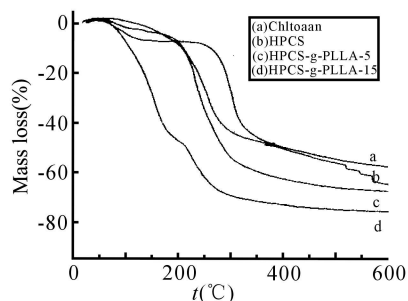


Fig. 4 TG Curves of the Different Samples

2.6 溶解性实验

对壳聚糖的衍生物羟丙基壳聚糖以及壳聚糖接枝乳酸共聚物进行了溶解性的测试, 羟丙基壳聚糖和壳聚糖接枝乳酸共聚物都表现出较好的溶解性。羟丙基壳聚糖易溶于去离子水中, 壳聚糖接枝乳酸共聚物 (HPCS-g-LLA) 溶于 DMSO、DMF 和去离子水中。

3 结论

将丙交酯和羟丙基壳聚糖以钛酸四丁酯为催化剂, 90°C 进行接枝共聚制备得到了具有亲水亲油的两亲共聚物。FT-IR 及 ¹H-NMR 对产物进行结构分析表征, 表明聚乳酸侧链成功接枝到羟丙基化的壳聚糖糖上。XRD 对接枝产物的结晶性能分析表明, 羟丙基的引入破坏了壳聚糖的结晶性, 聚乳酸链段进一步减弱了氢键作用。壳聚糖接枝共聚物在 DM SO、DMF 及去离子水中有很好的溶解性, 这有利于壳聚糖接枝共聚物制作的纳米胶束应用于药物缓释领域。

参考文献:

- [1] 施云峰, 谢德明, 周长忍. 壳聚糖与丙交酯接枝共聚物的制备与表征[J]. 材料科学与工程学报, 2008, 26(1): 114-117. Shi Y F, Xie D M, Zhou C R. Preparation and characterization of chitosan and lactide grafted polymerization materials[J]. Journal of Material Science and Engineering, 2008, 26(1): 114-117.
- [2] 袁华, 葛芳芳, 仁杰. 壳聚糖-聚乳酸接枝共聚物的制备与表征[J]. 高分子材料科学与工程, 2009, 25(12): 1-4. Yuan H, Ge F F, Ren J. Preparation and characterization of chitosan-g-poly(L-lactide) copolymer[J]. Polymer Materials Science & Engineering, 2009, 25(12): 1-4.
- [3] Kim T H, Jin H, Kim H W. Mannosylated chitosan nanoparticle-based cytokine gene therapy suppressed cancer growth in BALB/c mice bearing CT-26 carcinoma cells[J]. Mol. Cancer Ther., 2006,

- 5(7): 1723-1732.
- [4] Weecharangsan W, Opanasopit P, Ngawhinunpat T. Chitosan lactate as a nonviral gene delivery vector in COS1 cells[J]. *Aaps. Pharm-scitech.*, 2006, 7(3): E74-E79.
- [5] Zhang Y, Ni M, Zhang M. Calcium phosphate chitosan composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Tissue Eng.*, 2003, 9(2): 337-345.
- [6] Ge Z G, Baguenard S, Lim L Y, *et al.* Hydroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(6): 1049-1058.
- [7] Wu Y, Zheng Y L, Wang C C, *et al.* Synthesis and characterization of a novel amphiphilic chitosan-poly lactide graft copolymer[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2005, 65(59): 165-171.
- [8] Li G, Zhuang Y L, Mu Q, *et al.* Preparation, characterization and aggregation behavior of amphiphilic chitosan derivation having poly(L-lactide acid) side chains[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 68(72): 60-66.
- [9] Luckachan G E, Pillai C K S. Chitosan/oligo L-lactide graft copolymers: Effect of hydrophobic side chains on the physico-chemical properties and biodegradability[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2006, 64(2): 254-266.
- [10] 韩蕴华. 壳聚糖的羟丙基化研究[J]. *天津师范大学学报: 自然科学版*, 2001, 21(2): 8-10.
- Han Y H. Studies on the modification of chitin[J]. *Journal of Tianjin Normal University: Natural Science Edition*, 2001, 21(2): 8-10.

Preparation and Characterization of Lactide Graft Hydroxypropyl-Chitosan

Jianxiang Yu, Wufang Yang, Xiaoyu Wang, Zhongyuan Guan, Tianyu Yao
(*Department of Material Science and Engineering, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China*)

ABSTRACT: Using hydroxypropyl-chitosan(HPCS) as hydrophilic and poly(L-lactide) (PLLA) as hydrophobic segment, the amphiphilic graft copolymer was prepared through two steps. hydroxypropyl-chitosan (HPCS) was prepared firstly by the reaction of chitosan and 1,2-cyclopropane in isopropanol. The amphiphilic copolymerization was carried out by ring opening polymerization of lactide using $Ti(OBu)_4$ as catalyst in dimethyl sulfoxide (DMSO) under the nitrogen atmosphere. The chemical structure and physical properties of chitosan derivatives were characterized by FT-IR, ^1H-NMR , TG and XRD. The crystallinity of the graft copolymer decreases, and the thermal decomposition temperature reduces from 281 °C to 212 °C. The solubility of HPCS-g-LLA is superior to that of chitosan in some solvents, especially in DMSO and deionized water.

Keywords: chitosan; L-lactide; amphiphathy; graft copolymer