

甲壳素类液晶高分子的研究

——用 CD 谱研究 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖溶致胆甾相的形成临界浓度*

赵雅青 董炎明** 毛 微 毕丹霞 杨柳林 章 慧 方雪明

(厦门大学材料科学与工程系 固体表面物理化学国家重点实验室 厦门 361005)

摘 要 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖在多种常见有机溶剂中能形成胆甾液晶相. 用圆偏光二向色性谱(CD)研究了 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖的 DMF、DMSO、DMAC 和吡啶 4 种溶剂体系, 在形成溶致胆甾液晶相前后的手性变化信息. CD 谱图上观测到两类吸收, 即在 400 nm 附近较宽的吸收和 330 nm 附近较尖锐的吸收. 前者归属于胆甾相层片的超分子螺旋构象, 而后者可以归属于分子链的螺旋构象. 圆偏光二向色性可以作为测量胆甾液晶临界浓度的一种手段, 它能捕捉到胆甾螺旋层片出现那一瞬间的浓度, 以 CD 谱上在波长 400 nm 左右刚出现肩峰的浓度为临界浓度, 其值均比偏光显微镜法低 1%, 说明其灵敏度比偏光显微镜法高, 且避免了偏光显微镜法的某种主观性. 分别用两种方法旋转玻片进行 CD 测试, 结果证明线性二向色性分量和双折射分量对胆甾层片螺旋的 CD 信号强度没有大的影响.

关键词 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖, 胆甾相, 圆二色性谱, 临界浓度

壳聚糖及其衍生物一般能在合适的溶液中形成胆甾液晶^[1,2], 胆甾相具有螺旋的层片结构, 是“超分子结构”上的手性. 空间构象包含了 4 种层次的手性^[3], 首先是原子层次的手性, 即构型; 其次是由原子直接键合的分子层次的手性, 即构象; 在各向同性或各向异性相中, 原子或分子的长程有序排列能引入相的手性, 这就是所谓的“超分子结构”的手性; 最后是宏观的手性. 在我们的研究中, 着重注意分子层次的手性即构象和“超分子结构”的手性, 胆甾液晶层片的螺旋构象就属于这一层次.

圆偏光二向色性谱(简称 CD)是研究手性的一种很好的方法, 最早用 CD 方法研究甲壳素/壳聚糖体系主要是研究其与金属的螯合作用^[4~6], 而研究壳聚糖及其衍生物的胆甾螺旋行为还不多^[7~9], 主要是研究极稀溶液和临界浓度以上浓溶液的 CD 特性, 没有临界浓度附近液晶性质转变的研究. 为此本文用 CD 研究了 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖(PhthCS)的二甲基甲酰胺(DMF)、二甲亚砜(DMSO)、吡啶以及二甲基乙酰胺(DMAc)溶液形成胆甾液晶时的手性变化.

1 实验部分

1.1 材料和仪器

壳聚糖为厦门第二制药厂产品, 酸碱滴定法测得脱乙酰度为 84%, 粘度法测得分子量为 7.4×10^5 . 采用非均相间歇处理的方法, 将只有部分脱乙酰的原料壳聚糖在 47% 的 NaOH 溶液中于 80~90 °C、N₂ 保护下处理 8 h, 并重复 3 次. 精制后产物的脱乙酰度用红外法测定近似为 100%. 其他试剂和溶剂均为化学纯药品, 溶剂使用前重蒸馏.

圆偏光二向色仪为日本 Jasco J-810 型, 室温测定.

1.2 PhthCS 的合成

参考文献[10,11]的方法, 于 500 mL 三口瓶中, 加入 10.8 g 邻苯二甲酸酐, 320 mL DMF, 搅拌使之溶解后, 加入 4.0 g 壳聚糖, N₂ 保护下升温至 120 °C, 反应 7 h. 冷却后, 滤去未反应物, 滤液中加入 400 mL 蒸馏水, 使产物沉淀析出, 并分别用乙醇、水洗涤数次. 真空干燥至恒重得白色或浅黄色固体.

1.3 CD 样品的制备方法

在 5 mL 的带聚四氟乙烯密封盖的称量瓶中

*2004-05-25 收稿, 2004-07-27 修稿; 国家自然科学基金(基金号 20374041), 福建省自然科学基金(基金号 E0310002)和福建省重点科技项目(项目号 20041006)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: ymdong@jingxian.xmu.edu.cn

配置系列不同浓度(重量百分比)的 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖待测溶液,静置一天。

测量用的石英玻片经过特殊加工,如图1所示。石英片 b 为平板石英片,厚度为 2 mm,直径为 2.5 cm。石英片 a 是在 b 的中心,加工出一个深度为 0.5 mm,直径为 1 cm 的凹槽。

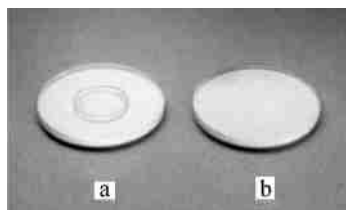


Fig. 1 Quartz plates used in CD measurement

制样时,取约 30 mg 的溶液于石英片 a 的凹槽中心,在将石英片 b 盖上,将其压平,注意 b 盖上时,不要在凹槽中产生空隙及气泡。这样的制样方法能保证制成的不同样品的厚度基本一致。

2 结果与讨论

2.1 PhthCS/DMF 溶液临界浓度的研究

图2是不同浓度的 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖/DMF 溶液的 CD 谱图。从图上可以看到,当溶液浓度较小时,CD 谱只是在 330 nm 附近形成了尖锐的吸收峰;当浓度提高到 45% 时,400 nm 附近的

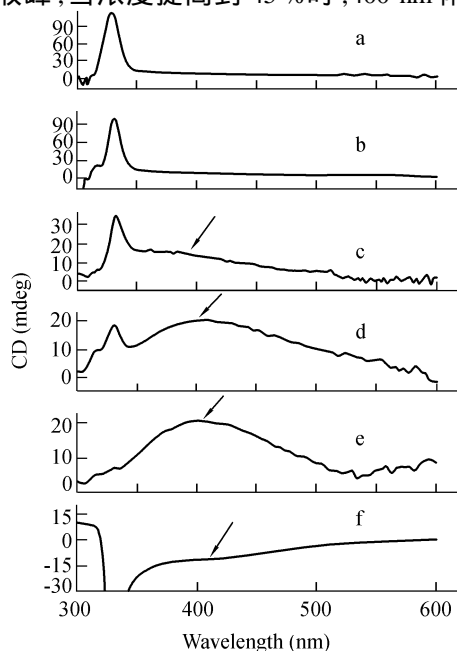


Fig. 2 CD spectra of PhthCS/DM solutions with varying concentration

a) 43 %; b) 44 %; c) 45 %; d) 46 %; e) 47 %; f) 55 %

可见光区的吸收增强,形成了一个很宽的吸收峰;浓度达到 46% 时,400 nm 的宽峰的强度进一步提高;浓度达到 47% 时,400 nm 的宽峰的强度已经基本不变,而 330 nm 的尖峰消失。当浓度为 55% 时,尖峰和宽峰都变为向下。

平面偏振光可分解为位相相同、振幅绝对值相等、旋转方向相反的左旋和右旋两束圆偏振光。手性介质的光学活性即光学吸收的各向异性就表现在对此左旋和右旋的两束圆偏振光的摩尔吸光度不同,即 $\epsilon_L \neq \epsilon_R$, 因此产生了“圆二色性”。而 CD 谱图的纵坐标就是 $\epsilon_L - \epsilon_R$ (mdeg)。物质的圆二色性可用分子椭圆度 $[\theta]$ 来表示,它与摩尔消光系数的关系是: $[\theta] = 3298 \epsilon_L - 3298 \epsilon_R$, 量纲是 rad cm^{-1} 。图3是 PhthCS/DMF 溶液体系在可见光区 410 nm 波长时的椭圆度随溶液浓度变化曲线,可以看见浓度为 45% 时椭圆度出现突变,即物质的圆二色性出现突变。

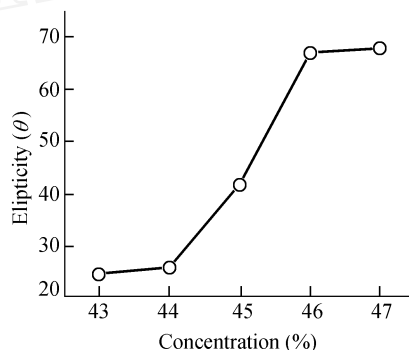


Fig. 3 The relationship between concentration and ellipticity of PhthCS/DMF solution ($\lambda = 410 \text{ nm}$)

通过偏光显微镜的观察,45% 的 PhthCS/DMF 溶液开始出现液晶相,46% 的该溶液就出现了大片胆甾液晶相特有的平面织构,见图4,说明此时开始出现了胆甾层片。而 CD 谱图恰好在这个浓度发生突变,开始在可见光区出现宽的吸收峰,两者结果相一致。因此我们确定 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖/DMF 溶液的液晶临界浓度为 45% (CD 法) 或 46% (显微镜法)。同时证明可见光区这个宽峰归属于胆甾液晶层片螺旋构象的“超分子结构”。对胆甾溶致液晶来说,进入液晶相临界浓度后,此峰一直存在。溶液浓度增大,此峰会发生翻转,如图2(f), Cotton 效应由正变负,即胆甾螺旋从左旋变为右旋,已另文作了说明^[12]。

通过选择光反射波长可以计算螺距大小。最大选择光反射波长 λ_{max} 与胆甾相螺距 P 有以下关

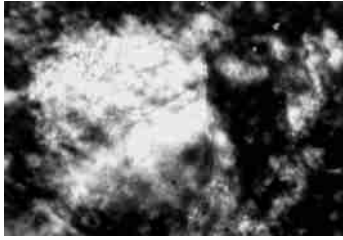


Fig. 4 Photomicrograph of the planar texture of 46 % PhthCS/DMF solution

系: $\bar{P} = \frac{\bar{m}_{\max}}{n}$, 其中, \bar{n} 为平均折射率. PhthCS 的折射率为 1.532, 从图 2 中读得, $\bar{m}_{\max} = 400 \text{ nm}$, 所以该体系的胆甾相螺距 $\bar{P} = 261 \text{ nm}$.

当浓度小于临界浓度, 即液晶相出现之前 330 nm 的尖峰已经存在, 因此与“超分子结构”的胆甾螺旋构象无关, 同时随着浓度增加 CD 峰的符号反转, 因此也不可能是不对称碳原子手性中心引起的旋光行为^[13]. 所以此峰归属于另一层次, 即分子链的螺旋构象.

2.2 PhthCS 在其他溶剂中临界浓度的研究

与 PhthCS/DMF 溶液类似, 在 PhthCS/DMSO 溶液的 CD 谱图中, 可以看到同样的规律, 见图 5. 在液晶临界浓度之前, CD 谱图上只有 330 nm 的这个尖锐的吸收峰, 归属于分子链的螺旋构象. 当浓度达到 43 % 时, 可见光区开始出现正的较宽的吸收峰, 前面提到过, 这个峰归属于胆甾液晶层片螺旋的“超分子结构”, 所以表明溶液进入了胆甾液晶相. 43 % 就是 PhthCS 溶致液晶在 DMSO 溶液中

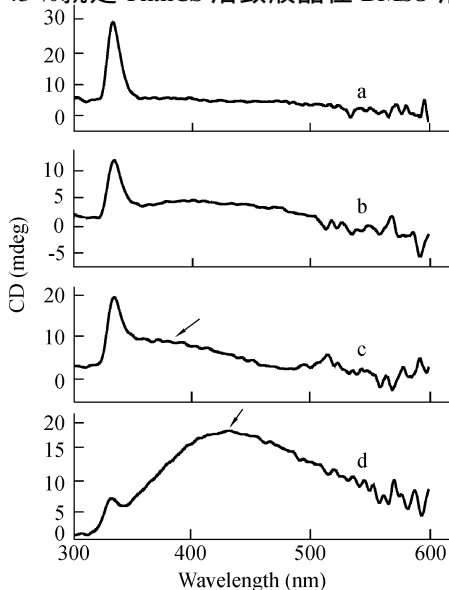


Fig. 5 CD spectra of PhthCS/DMSO solutions with varying concentration

a) 41 %; b) 42 %; c) 43 %; d) 44 %

的临界浓度. 偏光显微镜的观察证实了这一结果. 浓度达 44 % 时, 可见光区的峰强度进一步增大, 峰覆盖范围宽达 350 ~ 550 nm. 同时与图 2 类似的是, 溶液浓度的增大造成了 330 nm 分子链构象峰强度的减弱, 说明分子链构象有从左旋部分开始变为右旋, 从而抵消了一部分左旋分子链产生的正的椭圆度.

N-邻苯二甲酰化壳聚糖还可以溶于吡啶, DMAc 等常见的有机溶剂. 我们同时也用 CD 测定了 PhthCS/吡啶溶液以及 PhthCS/DMAc 溶液的临界浓度(见图 6, 7), 得到的结果与上述另两种溶剂的测定结果一并列于表 1, 表 1 还列出相应的偏光显微镜观察结果. 可见两种方法的测定结果基本一致. 用 CD 法测得的临界浓度值均比偏光显微镜法低 1 %, 这是因为 CD 信号中宽峰在液晶刚出现的时候就能在约 400 nm 处出现肩峰(在图 2、5、6、7 中以箭头标出), 强度一般为 10 mdeg 左右, 从而它能捕捉到胆甾层片螺旋刚刚出现的那一个浓度. 因而在较良溶剂体系中, CD 法测定灵敏度更高, 而且避免了偏光显微镜法某种程度的主观性.

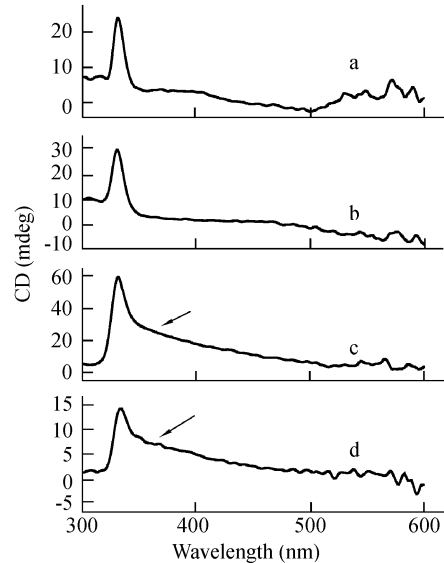


Fig. 6 CD spectra of PhthCS/Pyridine solutions with varying concentration
a) 38 %; b) 39 %; c) 40 %; d) 41 %

Table 1 Comparison of critical concentration between CD and POM methods

Systems	Critical concentration measured by CD	Critical concentration measured by POM
PhthCS/DMF solutions	45 %	46 %
PhthCS/DMSO solutions	43 %	44 %
PhthCS/pyridine solutions	40 %	41 %
PhthCS/DMAc solutions	43 %	44 %

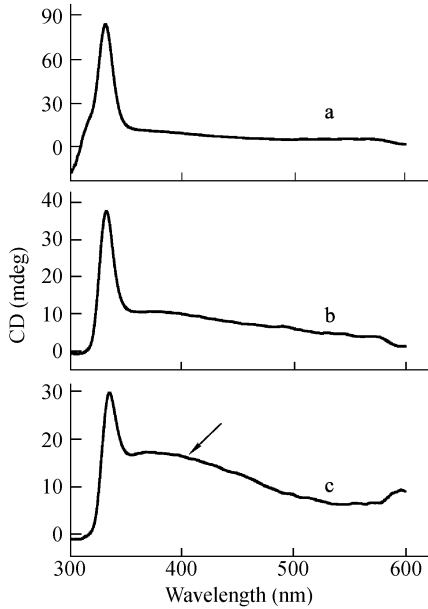


Fig. 7 CD spectra of PhthCS/DMAc solutions with varying concentration

a) 41 %; b) 42 %; c) 43 %

2.3 CD 谱图影响因素的讨论

当用不同方向的偏振光照射样品时,有多种

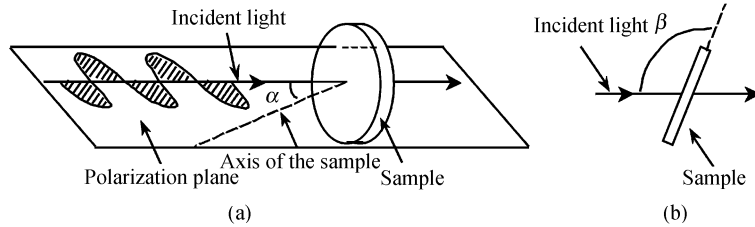


Fig. 8 Two different ways of sample tilt in CD measurement

The dash line represent the normal in (a) and the plane of the sample in (b)

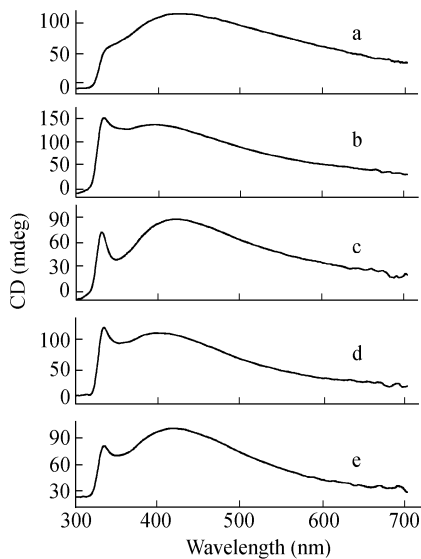


Fig. 9 CD spectra of 45 % PhthCS/DMAc solution with different

a) = - 30 °; b) = - 15 °; c) = 0 °; d) = + 15 °; e) = + 30 °

不同的影响因素决定 CD 的信号^[14]. 通常来说,谱图上所得到的椭圆度主要包括 3 个部分:

$$obs = CD + LD + Br$$

上式只有第一项 CD 是由样品真正的手性结构引起的圆偏光二向色性信号,它不依赖于偏振光入射方向与样品的角度. 与此相区别的是后面的两项都与样品放置的角度有关系. LD 是线性二向色性分量,它与分光计平面偏振光的偏振平面和各向异性样品的主轴(即样品平面的法线)的夹角成余弦关系,见图 8(a). Br 是双折射分量,它主要与样品平面和偏振光入射方向之间的夹角有关,见图 8(b). 对于各向异性的固体(浓溶液)样品,有时候 LD 和 Br 的影响是不能忽略不计的.

分别用上图所示两种旋转石英玻片的方法对 45 % PhthCS/DMAc 体系进行 CD 测定. 从图 9、10 中可以看到,随着玻片的旋转,在可见光范围出现的宽峰的高度并没有大的变化,只是 330 nm 的峰高有较大幅度的减弱,特别是在改变玻片与光轴的夹角时.

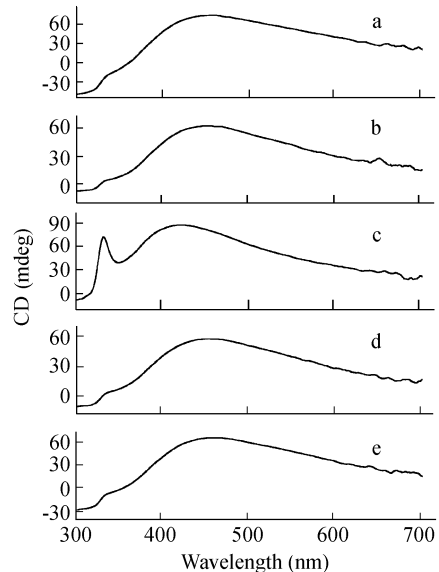


Fig. 10 CD spectra of 45 % PhthCS/DMAc solution with different

a) = 60 °; b) = 75 °; c) = 90 °; d) = 105 °; e) = 120 °

而 400 ~ 600 nm 的可见光区的宽峰归属于胆甾液晶层片的螺旋结构,其峰高没有大的变化,可见在测试条件下, $obs = CD + LD + Br$ 式中后两项

分量,即线性二向色性和双折射分量对胆甾层片螺旋的 CD 信号的强度没有大的影响,用这样的 CD 信号来判定液晶临界浓度是可行的。

REFERENCES

- 1 Dong Y M, Yuan Q, Huang Y. J Polym Sci Polym Phys Ed, 2000, 38: 980 ~ 986
- 2 Dong Y M(董炎明), Wang M(王勉) Wu Y S(吴玉松), Ruan Y H(阮永红), Acta Polym Sinica(高分子学报), 2001, (3): 311 ~ 315
- 3 Kuball H G, Turk O. Pblish J Chem 1999, 73: 209 ~ 228
- 4 Buffington L A, Stevens E S. J Am Chem Soc, 1979, 101(18): 5159 ~ 5162
- 5 Yamamoto H, Nakazawa A, Hayakawa T, Nishi N. J Polym Sci Polym Lett Ed, 1984, 22(5): 255 ~ 260
- 6 Yamamoto H. Makromol Chem, 1984, 185(8): 1613 ~ 1621
- 7 Rout D K, Pulapure S K, Gross R A. Macromolecules, 1993, 26: 5999 ~ 6006
- 8 Rout D K, Pulapure S K, Gross R A. Macromolecules, 1993, 26: 6007 ~ 6010
- 9 Rout D K, Barman S P, Pulapure S K, Gross R A. Macromolecules, 1994, 27: 2945 ~ 2950
- 10 Nishimura S I, Kohgo O, Kunita K. Macromolecules, 1991, 24: 4745 ~ 4748
- 11 Nishimura S I, Kohgo O, Kunita K, Vittavat Vony C, Kuzuhara H. Chem Lett, 1990, 243 ~ 246
- 12 Dong Y M, Wu Y S, Zhao Y Q, Wang H W, Ruan Y H, Zhang H, Fang X M. Carbohydrate Research, 2003, 338: 1699 ~ 1705
- 13 Dong Yanming(董炎明), Wu Yusong(吴玉松), Ruan Yonghong(阮永红), Wang Huwu(王惠武), Zhao Yaqing(赵雅青), Guo Zhenchu(郭振楚), Tong Biai(董碧海). Acta Polym Sinica(高分子学报), 2003, (4): 509 ~ 512
- 14 Spitz C, Daehne S, Quart A, Abraham H W. J Phys Chem B, 2000, 104: 8664 ~ 8669

STUDIES ON CHITIN-BASED LIQUID CRYSTALLINE POLYMERS

—STUDIES OF CRITICAL CONCENTRATIONS OF *N*-PHTHALOYL CHITOSAN FOR THE FORMATION OF LYOTROPIC CHOLESTERIC PHASE USING CIRCULAR DICHROISM SPECTROSCOPY

ZHAO Yaqing, DONG Yanming, MAO Wei, BI Danxia, YANG Liulin, ZHANG Hui, FANG Xueming

(Department of Materials Science and Engineering, State Key Laboratory for Physics Chemistry of Solid Surfaces, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract *N*-phthaloyl chitosan is able to form cholesteric liquid crystalline phase in concentrated solutions of some organic solvents, including DMF, DMSO, DMAc and pyridine. Circular dichroism was applied to investigate the change of handedness for the above four systems. CD spectra suggested two kinds of absorption peaks when the concentration was higher than a critical concentration for forming liquid crystalline phase. One is a sharp peak at 330 nm, the other is a broad peak with a maximum at about 400 ~ 450 nm. However only sharp peak at 330 nm was observed for isotropic solutions. The sharp peak was induced by the helical conformation of molecular chains, and the broad peak was induced by the cholesteric helices of liquid crystal. Therefore the determination of the critical concentration for *N*-phthaloyl chitosan solutions by monitoring the very beginning of the appearance of the broad peak is feasible. The critical concentrations measured by CD were 1 wt % lower than those measured by polarized optical microscopy (POM) for all four solvents used. It means, as a method to measure the critical concentration, CD is more sensitive than POM. Two different ways of sample tilt were used in CD measurements to prove that the linear dichroism and birefringence had no effect on CD signal of cholesteric helices of the liquid crystal.

Key words *N*-phthaloyl chitosan, Cholesteric liquid crystalline phase, Circular dichroism (CD), Critical concentration