

甲壳素类液晶高分子的研究

VI 邻苯二甲酰化壳聚糖中酰胺酸取代度对液晶性的影响*

董炎明** 王 勉 吴玉松 阮永红

(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 通过控制不同反应时间和邻苯二甲酸酐/壳聚糖的摩尔比制备不同取代度的邻苯二甲酰化壳聚糖 (PHCS). 用 FTIR 研究了反应机理和产物结构, 观察到 PHCS 含两类取代即酰胺酸取代和酰亚胺取代. 反应时间较短时主要为前者, 取代度表示为 DS_1 ; 反应时间较长时主要为后者, 取代度表示为 DS_2 . 对 PHCS 在二氯乙酸 (DCA) 中的液晶行为观察, 结果表明, PHCS 的临界浓度随 DS_1 的增加而显著增加. DS_1 对 PHCS 临界浓度的影响明显大于 DS_2 的影响. 基本上为酰胺酸取代的 PHCS 的临界浓度高于溶解度, 以至于观察不到.

关键词 壳聚糖, 邻苯二甲酰化壳聚糖, 合成, 溶致液晶, 临界浓度

N-邻苯二甲酰化壳聚糖的合成早已引起人们的重视, 因为它是一个很好的中间体, 可溶于普通有机溶剂, 而且由于它可以进一步进行选择性的定量化学修饰而制备高分子药物, 和具生物相容性的人造组织等可设计生物材料^[1]. Kurita 等^[2] 从脱乙酰度为 50% 的水溶性壳聚糖制备了全 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖, 产物溶解性大为改善, 能溶于 DMF, DMAc, DMSO 和吡啶等有机溶剂.

Rout 等^[3-5] 首先研究了 *N*-邻苯二甲酰化壳聚糖的液晶性, 报道了在 DMSO 中形成液晶有序临界浓度为 21 wt% ~ 27 wt%. 并观察到在剪切时形成条带织构. 由于壳聚糖的 $-NH_2$ 上有两个氢, 当它与二酸酐反应时可能会发生酰胺化或酰亚胺化两种结果. 本文研究的是这一竞争反应给产物的液晶性所带来的重要影响.

1 实验部分

1.1 原料和仪器

壳聚糖, 厦门第二制药厂生产, 经球磨并过 40 目筛, 脱乙酰度 (酸碱滴定法) 为 84%, 分子量 (粘度法) 为 7.4×10^5 , 其他试剂为化学纯.

元素分析仪为意大利 CE 110 CHNS-O; 核磁共振仪为美国 Varian Unity 500Hz (溶剂为 DMSO- d_6); 富立叶红外光谱仪为美国 Nicolet Avator 360 (KBr 压片法); 偏光显微镜为日本 OLYMPUS BHT.

1.2 邻苯二甲酰化壳聚糖 (PHCS) 的合成

参考文献 [1, 6] 方法, 将 1 g 壳聚糖粉末和邻

苯二甲酸酐以摩尔比 0.5~3 (邻苯二甲酸酐/壳聚糖) 混合于 30 mL/DMF 中, 在氮气保护下于 125 °C 加热回流 0.5~6.5 h 不等. 产物用冰-水沉淀后经乙醇反复洗净, 于 50 °C 烘干. 这样通过控制反应时间和摩尔比得到 6 个不同取代度的样品, 命名为 PHCS1-PHCS6.

1.3 酰胺酸壳聚糖及其钠盐的制备

取主要为酰胺酸取代为主的 PHCS1 0.1 g 分散于 10 mL 水中, 边搅拌边滴加 1% NaOH 溶液使悬浮液变粘稠和透明, 滴至 pH=12 为终点. 经干燥得酰胺酸壳聚糖钠盐.

1.4 形成液晶相的临界浓度的测定方法

在小瓶中配制以 1% 间隔递增的不同重量百分比浓度的 PHCS/95% 二氯乙酸溶液, 搅拌后密闭, 于 42 °C 加热 24 h, 然后静置 14 天后使用. 在溶剂中添加少量水是为了增加 PHCS 的溶解性. 测定时取少许溶液于两玻片间制成厚度约 50 μ m 的液晶盒, 于 20 °C 偏光显微镜下刚能观察到双折射的浓度为临界浓度.

2 结果与讨论

2.1 PHCS 的结构分析

壳聚糖与邻苯二甲酸酐的反应比较复杂. 原则上壳聚糖的氨基和羟基都可能参与反应, 只有乙酰氨基不会反应. 实际上由于反应的活性顺序是氨基, 一级醇羟基和二级醇羟基, 因此反应多半在氨基上进行, 一级醇羟基也会有少量取代. 因而

* 2000-05-24 收稿, 2000-08-02 修稿; 国家自然科学基金 (基金号 29974023) 和福建省自然科学基金 (基金号 z 9910006) 资助项目;

** 通讯联系人

简化了的反应式和化学结构示意图如图 1 所示 (忽略了 16% 的乙酰氨基).

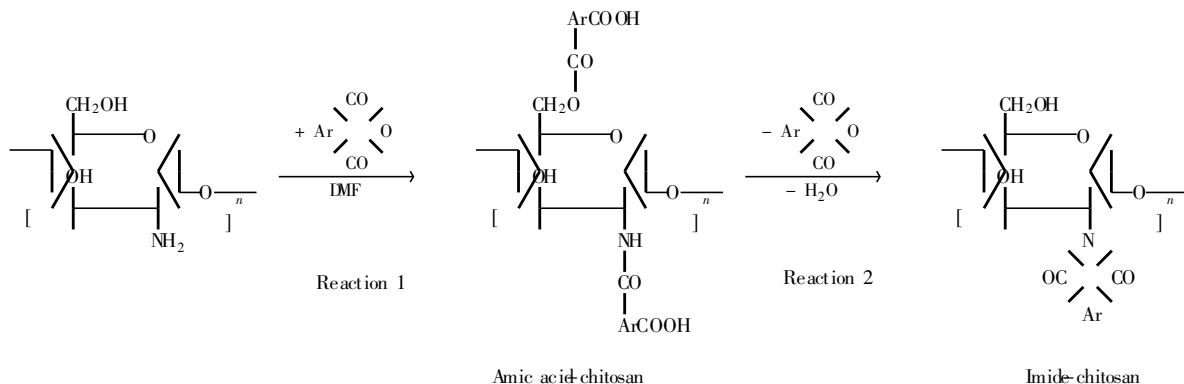


Fig. 1 The synthesis reaction equations and chemical structure of phthaloyl chitosan

反应时间较短时主要发生反应 1 而生成酰胺酸壳聚糖(包括少量氧上取代而得的邻苯二甲酸单酯, 反应主要发生在氮上, 所以简称为酰胺酸壳聚糖). 但随着反应时间的增加, 出现了反应 2, 即酰胺酸壳聚糖会转变为更稳定的环状结构的酰亚胺壳聚糖, 同时氧上的取代发生逆反应而释放邻苯二甲酸酐. 这一反应机理的分析得到以下实验结果的证实.

2.1.1 取代度的测定结果 PHCS 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图中 $\delta = 7.5 \sim 8.1$ 有一系列明显孤立的苯环质子峰(如图 2 所示), 因而可以用于总取代度 DS_{Total} 的测定, 参考文献[7], 以 C_2 上的质子 ($\delta = 2.5$) 为参比, 计算公式如下:

$$DS_{\text{Total}} = \frac{\frac{1}{4}A_{7.5 \sim 8.1}}{A_{2.5}}$$

$^1\text{H-NMR}$ 的计算结果列于表 1, 样品按反应条件为序编号. 由于在极性溶剂 DMSO 中测定, 所以未观察到酰胺酸中的羧基质子峰. 于是酰胺酸的取代度 DS_1 和酰亚胺的取代度 DS_2 由元素分析

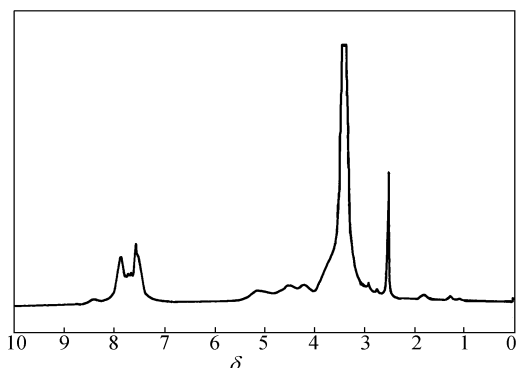


Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of PHCS3

定出, 结果列于表 1 和表 2.

Table 1 The reaction condition, degree of substitution and solubility of phthaloyl chitosan samples

Sample	PHCS1	PHCS2	PHCS3	PHCS4	PHCS5	PHCS6
Molar ratio (PH/CS)	0.5	1	3	3	3	3
Reaction time (h)	0.5	0.5	0.5	1.5	4	6.5
DS_{Total} (NMR)	0.45	0.46	0.96	0.62	0.69	0.78
DS_{Total} (Element analysis)	0.51	0.43	1.00	0.70	0.80	0.84
DS_1 (Element analysis)	0.45	0.32	0.70	0.20	0.11	0.06
DS_2 (Element analysis)	0.08	0.11	0.30	0.50	0.69	0.78
Solubility (in DCA)	E	E	E	I	D	D

PH: Phthaloyl anhydride; CS: Chitosan; DCA: Dichloroacetic acid; DS_1 : DS for the amic acid-chitosan; DS_2 : DS for the imide-chitosan; E: Easy; I: Intermediate; D: Difficult

Table 2 The element analysis results of PHCS samples

Sample	Found (Calculated) ^a (%)		
	C	H	N
PHCS1	48.30(48.04)	6.12(5.85)	4.94(5.39)
PHCS2	47.44(47.34)	6.59(5.99)	5.91(5.66)
PHCS3	51.83(52.33)	4.86(5.09)	3.86(4.26)
PHCS4	53.11(52.72)	5.10(5.20)	5.28(5.16)
PHCS5	53.99(53.99)	4.90(5.00)	4.77(4.95)
PHCS6	54.77(54.52)	4.73(4.92)	4.69(4.88)

^a Calculated for the formula based on 1 H₂O (for PHCS1 TO PHCS3) and 0.5 H₂O (for PHCS4 to PHCS6) per glucosamine residue

从表 1 可见, 摩尔比影响了 DS_1/DS_2 值, 也在一定范围内影响总取代度. 当酸酐明显过量时, 短时间反应得到酰胺酸壳聚糖, 酰亚胺壳聚糖较少. 超过 4h 后, 酰亚胺化基本完全. 从表 1 还可以观察到, 总取代度随反应时间的变化先升后降, 因

为反应前期在醇羟基上的取代随反应时间的延长会消除, 只留下酰亚胺的取代, 酰亚胺的取代度随反应时间而逐步增加。

2.1.2 富立叶红外光谱的分析结果 FTIR 的测定结果(图 3)进一步补充证实了以上反应机理分析. PHCS 的特征峰是 1712 与 1775 cm^{-1} 双重峰, 这是酰亚胺所特有的, 由于两个相邻的羰基相互作用分裂而成^[8]. 原壳聚糖没有这对峰, 只有 1599 cm^{-1} 的 $-\text{NH}_2$ 伸缩振动峰和残留峰很小而 1712 cm^{-1} 仍有一定高度, 除了一部分为酰亚胺取代的贡献外, 也叠加了氧上取代的酸和酯的贡献. 对 PHCS6(图 3d), 基本上是酰亚胺取代, 因而出现典型的 1712 和 1775 cm^{-1} 一高一低的双重峰。

酰胺酸的出现有以下方面的证据. 首先含羧基端多的 PHCS1-PHCS2 更易溶于二氯乙酸或甲酸(表 1). 其次, 主要为酰胺酸取代的 PHCS1-PHCS3 的 ν_{OH} 特别宽, 它覆盖了 $3335\sim 2500\text{ cm}^{-1}$ 整个区域, 从而使 2900 cm^{-1} 附近的 $\nu\text{C}-\text{H}$ 呈得较低(比较图 3 中 b 和 d). 这是由于羧酸倾向于形成二缔体, 很强的二缔体氢键使 ν_{OH} 变强且展宽, 并向低频移动^[9]. 这是存在羧酸的显著特征。

为进一步说明反应机理, 将 PHCS1 用碱中和

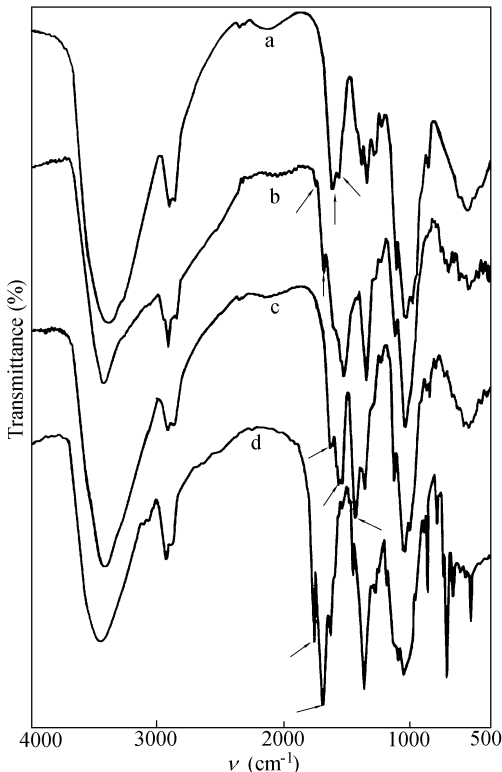


Fig. 3 FTIR spectra of chitosan (a), PHCS1 (b), sodium salt of amic acid chitosan prepared from PHCS1 (c) and PHCS6 (d)

后得钠盐, 发现 1712 cm^{-1} 峰消失, 而酰胺基的酰胺 I 谱带 1654 cm^{-1} 仍存在, 新出现 1558 cm^{-1} 和 1455 cm^{-1} 的 COO^- 的特征双峰^[10](图 3c). 这些都表明反应在最初阶段首先生成酰胺酸壳聚糖, 只有在延长一段时间后酰亚胺壳聚糖的成分才逐渐增加。

2.2 PHCS 液晶性的研究

2.2.1 PHCS 的溶致液晶性 大多 PHCS 样品在二氯乙酸(DCA)中呈现典型的液晶织构(图 4). 但酰胺酸含量很高的壳聚糖却观察不到其液晶织构. 在 20% 以内, 溶液均匀, 无双折射出现; 而当浓度更高时, 溶液呈现未溶解均匀的状态. 因而如果有液晶相, 也是出现在比最大溶解度更高的浓度上, 从而无法观察到. 这一现象也出现在其它天然高分子羧酸中, 如羧甲基纤维素, 羧甲基甲壳素, 羧甲基壳聚糖, 羧丁基壳聚糖等. 设想可能是由于大分子羧酸之间发生二缔作用, 这种强的分子间相互作用妨碍了分子的取向运动, 并增加了分子间距离而不利于分子的紧密堆砌, 且无规分布的羧基相互作用使分子间难以对齐, 因而临界浓度大为提高. 图 5 是这一解释的示意图。

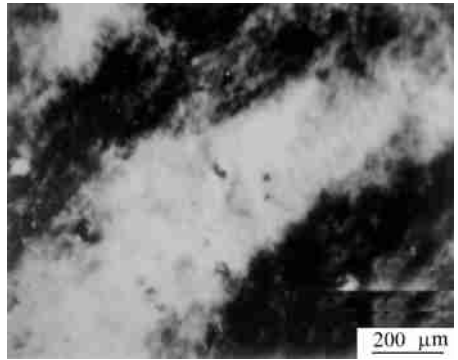


Fig. 4 Polarized optical micrograph of 20 wt% PHCS/DCA solution, showing a typical liquid crystalline texture

2.2.2 PHCS 的临界液晶行为 用光学方法测得 PHCS 在 DCA 中能形成液晶有序的最低浓度(即所谓临界浓度 c^*) 列于表 3.

Table 3 The critical concentration (c^* , in W/W) of PHCS/DCA solution

Sample	PHCS1	PHCS2	PHCS3	PHCS4	PHCS5	PHCS6	CS
c^*	- ^a	- ^a	0.18	0.15	0.13	0.12	0.08
DS_1	0.43	0.32	0.70	0.20	0.11	0.06	0
DS_2	0.08	0.11	0.30	0.50	0.69	0.78	0

^a Too high (over the solubility of polymer) to be determined

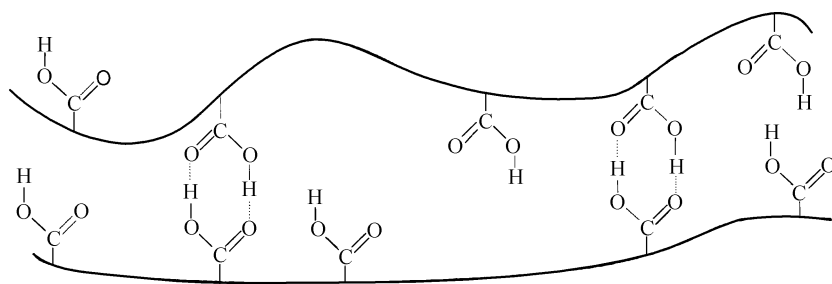


Fig. 5 Schematic representation of structure for amic acid-chitosan molecules in solution, showing that the occurrence of random interchain di-association of macromolecular carboxylic acid avoids liquid crystal ordering

PHCS 的临界浓度与总取代度之间找不到明确的关系. 从表观的数据来看, PHCS 的 c^* 与 DS_2 的关系出现相当好的规律, 但取代程度越高 c^* 越低的结果是难以解释的, 因为取代一般会破坏原壳聚糖分子间的强氢键, 同时使分子直径增大, 从而临界浓度增加或不变, 而不会降低, 正如前文所报道的那样^[11~13]. 另一方面, 可以观察到基本上是酰胺酸取代的 PHCS1 和 PHCS2 与基本上是酰亚胺取代的 PHCS5 和 PHCS6 的液晶行为有很大不同, 意味着必须考虑综合两种取代的总效应, 不能只考虑其中一种取代的影响.

正如前面所述酰胺酸的产生不利于液晶的形成, 酰胺酸越多, 越难形成液晶, 所以临界浓度越高. 另一方面酰亚胺取代对 c^* 的影响很小(影响规律从本实验尚难得出), 这一点从比较 PHCS5 ($DS_2 = 0.69$) 和 PHCS6 ($DS_2 = 0.78$) 这两个基本上都是酰亚胺取代的壳聚糖样品的 c^* (相差仅 0.01) 就可以看到. 而酰胺酸取代对 c^* 则影响很大, 所以前者被后者所掩盖了. 所以总的来说, c^* 随 DS_1 的增加而显著增加(见图 6).

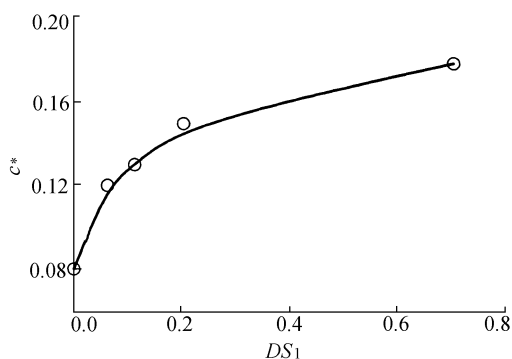


Fig. 6 The plot of DS_1 versus c^* for PHCS/DCA solutions

例外的是, 对于基本上为酰胺酸取代的壳聚糖(PHCS1 和 2), 尽管 DS_1 小于 PHCS3, 但 c^* 仍然高到难于检测. 原因可能是酰亚胺基团所发挥的作用. 如图 5 所示的二缔体的数目, 不仅取决于酰胺酸基团的数目, 而且在很大程度上取决于酰亚胺基团的数目. 当酰亚胺基团增多时, 酰胺酸基团形成二缔体的机率大为减少, 所以在此时酰亚胺基团的作用不可忽略.

REFERENCES

- Nishimura S I, Kohgo O, Kurita K, Kuzuhara H. *Macromolecules*, 1991, 24(17): 4745~ 4748
- Kunita K, Ichikawa H, Ishizeki S, Fujisaki H, Iwakura Y. *Makromol Chem*, 1982, 183: 1161~ 1169
- Rout D K, Pulapura S K, Gross R A. *Macromolecules*, 1993, 26(22): 5999~ 6006
- Rout D K, Pulapura S K, Gross R A. *Macromolecules*, 1993, 26(22): 6007~ 6010
- Rout D K, Baman S P, Pulapura S K, Gross R A. *Macromolecules*, 1994, 27(11): 2945~ 2950
- Nishimura S I, Kohgo O, Kurita k, Vittavat Vony C, Kuzuhara H. *Chem Lett*, 1990: 243~ 246
- Hirai T, Odani H, Nakajima A. *Polym Bull*, 1991, 26: 87~ 94
- Shen Deyan (沈德言). *Application of IR in Polymeric Studies (红外光谱在聚合物中的应用)*, Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1982. 67
- Tang Huitong(唐恢同). *The Identification of Organic Compound (有机化合物的光谱鉴定)*. Beijing(北京): Beijing University Press(北京大学出版社), 1994. 154
- Bellamy L J. *The Infra-Red Spectra of Complex Molecules (复杂分子的红外光谱)*. Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1975. 212
- Dong Yanming(董炎明), Wang Jianwei(汪剑伟), Wu Zhifu(吴智富), Mei Xuefeng(梅雪峰), Yuan Qing(袁清), Liu Huangnan(刘晃南).

Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 1999, (5): 576- 580

- 12 Dong Yanming(董炎明), Wang Jianwei(汪剑伟), Mei Xuefeng(梅雪峰), Wu Zhifu(吴智富), Yuan Qing(袁清), Liu Huangnan(刘晃南). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 1999, (6): 668- 673
- 13 Yuan Qing(袁清), Dong Yanming(董炎明), Wang Jianwei(汪剑伟). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2000, (1): 5- 8

STUDIES ON CHITIN-BASED LIQUID CRYSTALLINE POLYMERS VI. INFLUENCE OF THE DEGREE OF SUBSTITUTION OF AMIC ACID ON THE LIQUID CRYSTALLINE BEHAVIOR OF PHTHALOYL CHITOSAN

DONG Yanming, WANG Mian, WU Yusong, RUAN Yonghong

(Department of Materials Science and Engineering, State Key Laboratory for Physical Chemical Surface of Solids, Xiamen 361005)

Abstract Various substituted chitosan (PHCS) were prepared at 125 °C from chitosan and phthaloyl anhydride by controlling both the reaction time and molar ratio. The synthesis reaction mechanism and chemical structure of products were characterized by FTIR. Different compositions of amic acid-chitosan and imide-chitosan were found in these products, the former was converted into the latter at 125 °C after reacting relatively long time. The existence of amic acid-chitosan was proved by the good solubility and broad C—H stretch bands, as well as characteristic double bands of their salt (1455 and 1558 cm^{-1}). The existence of imide-chitosan was proved by characteristic double bands at 1712 and 1775 cm^{-1} . The total degree of substitution (DS_{Total}) was determined with $^1\text{H-NMR}$. The degree of substitution for both amic acid (DS_1) and imide (DS_2) was measured by element analysis. The polarized optical microscopy was employed to study the texture and the critical concentration (c^*) of liquid crystal phase in dichoroacetic acid. The c^* (in polymer weight fraction) at which liquid crystalline ordering was found to be present was $0.12\sim 0.18$ for some PHCS, and too high (over the solubility of polymer) to be detected for PHCS with high relative degree of amic acid substitution. The c^* was found to be affected mainly by the degree of substitution of amic acid. The c^* increased directly with the increase of DS_1 . The influence of DS_1 was significantly larger than that of DS_2 on the critical liquid crystalline behavior of PHCS.

Key words Chitosan, Phthaloyl chitosan, Synthesis, Lyotropic liquid crystal, Critical concentration