

天冬氨酸与谷氨酸共聚反应研究

朱 凌 吴一弦* 王玲玲 王 静 武冠英 黄启谷 杨万泰

(北京化工大学化工资源有效利用国家重点实验室, 北京 100029)

摘 要: 以天冬氨酸(A)和谷氨酸(G)为单体,在1,3,5-三甲苯(TB)和环丁砜(SUL)混合溶剂中,分别进行两者均聚及共聚反应,考察了溶剂配比、催化剂用量、单体配比、反应温度和时间等因素对产率、聚合物分子量和分子量分布的影响,并用FTIR和 ^{13}C -NMR对聚合产物进行了结构表征。结果表明,随着混合溶剂中TB含量增加、催化剂用量增加、反应温度升高和时间延长,产率和聚合物的分子量均增加。但催化剂用量过多和反应温度过高对聚合是不利的。天冬氨酸的反应活性大于谷氨酸,两者可以进行共聚反应,产率、共聚物的分子量及分子量分布随单体配料中A含量的增加而增大。不同A/G配比下得到产物的GPC谱图曲线为较窄的单峰分布,分子量分布指数($\overline{M}_w/\overline{M}_n$,MWD)从1.34到1.87,数均分子量(\overline{M}_n)范围从6000到11900。

关键词: 天冬氨酸; 谷氨酸; 共聚; 缩聚

中图分类号: O631.5

聚氨基酸材料作为药物控释体系的载体材料和体内短期植入物,在缓释药物研究和人工器官等方面有很好的应用前景^[1-3]。聚天冬氨酸合成路线通常为:(1)天冬氨酸直接缩合聚合^[4-7];(2)以马来酸或马来酸酐与铵或胺类物质反应,先得到聚琥珀酰亚胺(PSI),然后再水解得到聚天冬氨酸。聚谷氨酸主要是由生物聚合法制备,但聚合产物分子量很高且难于控制^[8]。

由于酰胺键存在,聚天冬酰胺在生物体内降解较慢。需从根本上对材料母体进行改性,才能增加材料的应用范围。通过调节不同氨基酸比例来合成氨基酸共聚物,可以达到与药物同步降解的目的^[1-3]。本文选用L-天冬氨酸和L-谷氨酸为原料,以高沸点混合溶剂(1,3,5-三甲苯和环丁砜)作介质,分别进行了两者的均聚及共聚反应,考察了溶剂配比、催化剂用量、单体配比、反应温度和时间等因素对产率、聚合物分子量和分子量分布的影响,这些结果和数据可为该类材料的进一步研究提供参考。

1 实验部分

1.1 主要试剂

L-天冬氨酸(A),北京化学试剂公司。L-谷氨

酸(G),北京化学试剂公司。1,3,5-三甲基苯(TB),上海试剂一厂。环丁砜(SUL),上海试剂一厂。磷酸(85%),北京益利精细化学品有限公司。

1.2 聚合反应

将适量天冬氨酸和谷氨酸研磨后加入100 mL圆底瓶中,加入SUL、TB和磷酸,搅拌均匀,在150左右溶解,继续升至设定的反应温度。反应结束后过滤,滤液用乙醇沉淀。用去离子水洗涤产物至中性,在30下真空干燥。

1.3 结构表征

用乌氏黏度计测定黏均分子量(\overline{M})。用美国Waters公司515-2410 GPC分析仪测分子量和分子量分布,硝酸钠为流动相。经KBr压片,在Nexus 670型傅里叶红外光谱分析仪上测定样品的红外光谱。以二甲基亚砜为溶剂,使用德国Bruker AV600 MHz的核磁共振谱仪测定样品的 ^{13}C -NMR谱。

2 结果与讨论

2.1 溶剂比对聚合反应的影响

通常谷氨酸(G)或天冬氨酸(A)需要在160以上进行缩聚反应,因此需要采用高沸点溶剂作反应介质。本文选择TB(沸点为165)、SUL(沸点为285)或两者混合物作溶剂,在 $m_A/m_G=3$ 、 $T=168$ 及其他条件确定的条件下,考察了溶剂及其对比对A与G缩聚反应产率、产物分子量及分子量分布的影响,结果如图1所示。

收稿日期: 2006-04-30

第一作者: 女, 1980年生, 硕士生

*通讯联系人

E-mail: yxwu@263.net

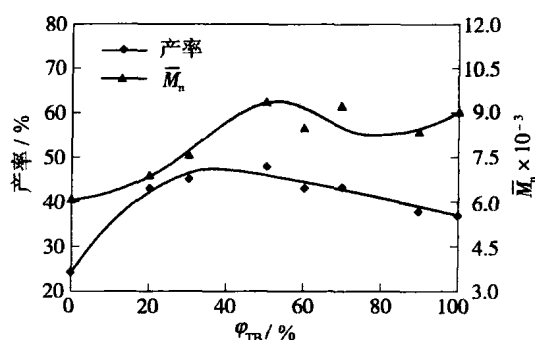


图1 溶剂中 TB 体积分数对产率及产物分子量的影响

Fig. 1 Effect of ϕ_{TB} on yield and \overline{M}_n of PAG in solvent mixtures

由图1可见,当使用SUL时,其沸点高,反应生成的水又能溶于其中,在反应温度下不能达到回流状态,因此反应产物中水无法进行有效脱除,导致反应不易进行,产率低,分子量低。随着溶剂体系中加入一定量TB,其沸点与反应温度相近,因而在聚合温度下观察到回流现象,通过回流可带走一部分反应产物水,使得聚合反应更容易发生,收率逐渐提高,产物分子量增加。当TB含量为50%时,产率和分子量最大。若溶剂中TB体积分数(ϕ_{TB}) > 50%时,则回流现象明显,产率略有降低,分子量变化不大,分子量分布也变化不大。当 ϕ_{TB} < 50%时,随着 ϕ_{TB} 增加,共聚产物GPC谱图曲线逐渐向左移动,即向高分子量方向移动,数均分子量(\overline{M}_n)从6100增至9500。分子量分布(MWD)变化不大,分布指数约为1.5。

考虑到聚合反应体系平稳和进一步升高反应温度的需要,以后实验中的混合溶剂体积比为1。

2.2 催化剂用量对聚合反应的影响

传统酸催化固相聚合方法,酸既做催化剂又做分散剂,因此酸用量大,催化剂和单体的质量比一般为0.4~2.2。相对而言,溶剂聚合法所需要催化剂的量少得多,并能得到较高分子量的产物。

研究表明,随着催化剂用量的增加,产率和聚合产物分子量呈先增加后减少的趋势。当催化剂和单体的质量比由0.18增至0.37时,产率由51%增至57%, \overline{M}_n 由 1.14×10^4 增至 1.22×10^4 。当催化剂和单体的质量比由0.37增至0.73时,产率由57%下降至44%, \overline{M}_n 由 1.22×10^4 降至 9.7×10^3 ,这可能是过量磷酸导致聚合物链降解的缘故。

2.3 单体比对聚合反应的影响

在其他条件不变的情况下,考察了投料比[$m_A/$

($m_A + m_G$)]对产率、聚合产物分子量及分子量分布的影响,结果见图2和图3。

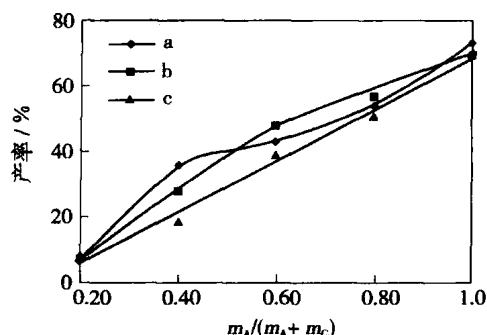
 $m_A / (m_A + m_G)$: a. 0.27; b. 0.37; c. 0.46

图2 单体中A含量对聚合产率的影响

Fig. 2 Effect on the yield of varying the content of the monomer A

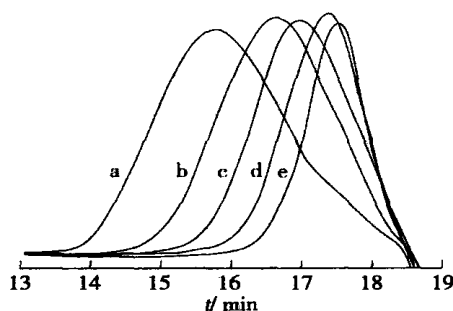
 $m_A / (m_A + m_G)$: a. 1.0; b. 0.8; c. 0.6; d. 0.4; e. 0.2

图3 单体中A含量对产物GPC谱图影响

Fig. 3 Effect on GPC traces of PAG of varying the content of the monomer A

在不同催化剂用量条件下,随着A在单体中比例的上升,产率明显上升。这也说明,A的反应活性较G的高。在不同单体配比条件下得到的聚合物GPC谱图曲线均为较窄的单峰分布,随着A含量的增加,GPC谱图曲线半峰宽逐渐加大,并向高分子量方向移动,平均分子量增加,分子量分布逐渐变宽,分布指数从1.34到1.87。当A含量为80%时,分子量分布指数增加到1.87, $\overline{M}_n = 11900$ 。当单独进行天冬氨酸均聚时,产率高,分子量大, $\overline{M}_n = 21000$,分子量分布较宽,分子量分布指数为2.33。可见增加A的比例可以提高共聚物的分子量,增加G的比例可得到分子量分布较窄的共聚物。

2.4 反应温度对聚合反应的影响

在传统的固相催化A缩聚反应中,当温度低于200℃时,产率低于20%。为得到较高产率,反应温

度通常设在 240 左右。通过本研究可知,对于 A 均聚,温度在 160~170,反应 5 h,产率可达 70% 左右,表明加入溶剂使聚合反应的必要温度降低。下面进一步考察在 160~173 范围内反应温度对产率和聚合物分子量的影响(见图 4)。

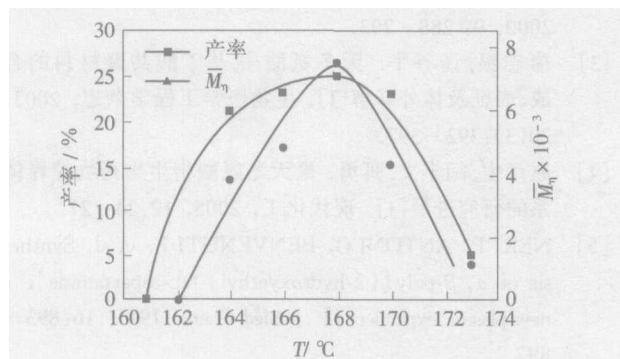


图 4 反应温度对产率及产物分子量的影响

Fig. 4 Effect of reaction temperature on yield and M of PAG

当反应温度低于 162 时,分子没有足够的能量越过反应势能垒,故不能发生聚合。随着温度增加,分子动能增加,分子运动比较剧烈,单体和催化剂分子碰撞的几率增加,反应速率加快。当反应温度为 168 时,产率和分子量均达到最大值。当温度高于 168 时产率和分子量不升反降,主要原因是:(1)反应体系中 t_b 蒸发过于明显,气相中含量较多,使得通过回流带走反应产物 H_2O 的作用减少;(2)在酸性条件下,温度过高时大分子降解,从而导致产率和分子量降低。

2.5 反应时间对聚合反应的影响

反应时间由 2 h 延长至 5 h,产率和黏均分子量均逐渐增加。当反应时间 > 5 h 时,产率和分子量不再继续增大。所以反应时间为 5 h 较好。

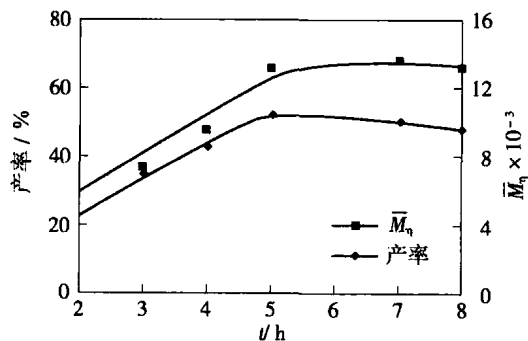


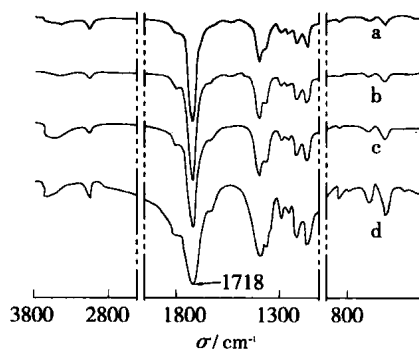
图 5 反应时间对产率及产物分子量的影响

Fig. 5 Effect of polymerization time on yield and M

3 共聚物结构表征

在本文的实验条件下合成的共聚产物均为单峰分布,而不是明显的双峰分布,天冬氨酸均聚物分子量一般为 $2 \times 10^4 \sim 3 \times 10^4$,而谷氨酸均聚物分子量仅为 1×10^3 ,这说明共聚产物应是两者的共聚物,而非两种均聚物的混合物。

图 6 是不同质量比的 PAG 共聚物的红外光谱图。曲线 a~c 中 1718 cm^{-1} 处为羰基伸缩振动峰, 2953 cm^{-1} 处对应亚甲基的 C—H 伸缩振动峰, 1530 cm^{-1} 处的吸收带峰来源于 N—H 弯曲和 C—N 伸缩振动的耦合(酰胺吸收带 II),两者的结合证明了酰胺键的存在。同时, 2953 和 1380 cm^{-1} 处的吸收峰表明分子结构中存在 CH_2 及 CH (弯曲振动)。说明共聚物中有两种结构单元的存在。



m_A/m_G : a. 2.8; b. 5.5; c. 6.4; d. 10.0

图 6 不同单体配比共聚物的红外光谱

Fig. 6 FTIR spectra of PAG obtained with different weight fractions of the monomers

图 6 中曲线 d 为天冬氨酸均聚物的红外光谱谱线, $1600 \sim 1800 \text{ cm}^{-1}$ 处的峰较宽。随着单体中谷氨酸含量的增加,共聚程度加深,从 d 到 a 在 $1600 \sim 1800 \text{ cm}^{-1}$ 处的峰依次变窄,说明产物并非两种均聚物的混合,而是生成的共聚物。观察上图可以看出在 1799 cm^{-1} 处有一小峰,这是由聚天冬氨酸中 C=O 的变形振动耦合产生的。随着从 d 到 a 共聚程度加深,该峰的强度减弱。从 d 到 a, 1530 cm^{-1} 处属于酰胺吸收带 II 的谱峰逐渐加强,表明共聚物中聚谷氨酸结构比例增加,共聚程度加深。从此图中可以看出,从 a 到 d 随 A 所占比例的增加, 1780 cm^{-1} 处酰亚胺结构上的羰基 C=O 的对称和不对称伸缩振动吸收峰逐渐增强,这证明酰亚胺的含量逐渐增多。

从图 7 可以看出,两种单体的比例不同,其共聚

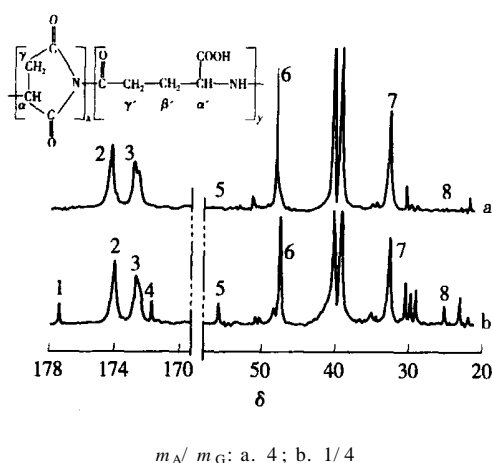


图 7 不同单体配比共聚物的¹³C-NMR 谱图

Fig. 7 ¹³C-NMR spectra of PAG obtained with different weight fractions of the monomers

物结构也有一定的差别。当 $m_A/m_G = 4$ 时, 由于谷氨酸含量较低, 聚谷氨酸特征峰十分微弱。当 $m_A/m_G = 2.8$ 时, 可以看到在 $\delta = 171.8$ 处出现了一个小峰 (No. 4), 这是聚谷氨酸结构中羰基上碳原子的特征峰; 同时在 $\delta = 25$ (No. 8) 处出现的是聚谷氨酸段中 α -C 的特征峰。这表明, 在谷氨酸用量比例较大的体系中, 两种单体的共聚程度更大。

参考文献:

- [1] 汤谷平, 朱亚尔, 谢小江, 等. 天冬氨酸-谷氨酸共聚物的合成、表征及性质研究[J]. 生物医学工程杂志, 2001, 18(3): 337 - 341.
- [2] 楼健伟, 汤谷平, 王晖. 天冬氨酸-氨基乙酸共聚材料的合成、表征及降解[J]. 中国生物医学工程学报, 2000, 9: 288 - 293.
- [3] 廖志银, 汤谷平. 天冬氨酸-氨基丁酸共聚材料的合成、表征及体外降解[J]. 生物医学工程学报, 2003, 20(3): 392 - 397.
- [4] 赵彦生, 闫丰文, 弭勇. 聚天冬氨酸衍生物药物控释体系的研究进展[J]. 现代化工, 2005, 12: 24 - 27.
- [5] NERI P, ANTONI G, BENVENUTI F, et al. Synthesis of γ -poly[(2-hydroxyethyl)-DL-aspartamide], a new plasma expander[J]. J Med Chem, 1973, 16: 893 - 897.
- [6] NAKATO T, KUSUNO A, KAKUCHI T, et al. Synthesis of poly(succinimide) by bulk polycondensation of L-aspartic acid with an acid catalyst[J]. J Polym Sci, Part A, 2000, 38: 117 - 120.
- [7] TOMIDA M, NAKATO T, KURAMOCHI T, et al. Convenient synthesis of high molecular weight poly(succinimide) by acid-catalysed polycondensation of L-aspartic acid[J]. Polymer, 1997, 38(18): 4733 - 4736.
- [8] 张新民, 游庆红, 徐虹, 等. 生物可降解聚谷氨酸高吸水树脂的制备[J]. 高分子材料科学与工程, 2003, 19(2): 203 - 205.

The copolycondensation of L-aspartic acid and L-glutamic acid

ZHU Ling WU YiXian WANG LingLing WANG Jing WU Guan Ying
HUANG QiGu YANG WanTai

(State Key Laboratory of Chemical Resource Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

Abstract: The copolycondensation of L-aspartic acid (A) and L-glutamic acid (G) was conducted in sulpholane, 1,3,5-trimethyl benzene or mixtures of these solvents. The effects of varying the dosage of the phosphoric acid catalyst, monomer ratios, solvent ratios, reaction temperature and time on yield, molecular weight and average molecular weight distribution ($\overline{M}_w/\overline{M}_n$, MWD) of the polymer products were investigated. The yield and molecular weight were found to increase with increasing concentration of phosphoric acid, proportion of 1,3,5-trimethyl benzene in the mixed solvent, reaction temperature or time. L-aspartic acid is more reactive than L-glutamic acid and the molecular weight of the copolymer increases with increasing monomer ratio of A to G. The GPC traces of the copolymers of L-aspartic acid and L-glutamic acid (PAG) obtained with different monomer ratios exhibit unimodal narrow distributions with number-average molecular weight (\overline{M}_n) in the range of 6000 to 11900 and polydispersity in the range of 1.34 to 1.87.

Key words: L-aspartic acid; L-glutamic acid; copolymerization; polycondensation