

综述与进展

壳聚糖硫酸酯制备研究进展

程国君¹, 钟 磊², 吴国忠²

(1. 安徽理工大学材料科学与工程学院, 安徽 淮南 232001; 2. 中国科学院上海应用物理研究所, 上海 201800)

摘 要:壳聚糖是自然界广泛分布的天然高分子多糖, 结构中含有活泼的羟基和氨基, 可进行多种化学修饰, 磺化修饰的壳聚糖具有类肝素的结构和特征反应, 可为研制类肝素物质奠定基础。本文对国内外磺化壳聚糖的制备方法进行综述。

关键词:壳聚糖; 修饰; 壳聚糖硫酸酯

中图分类号: O 636

文献标识码: A

文章编号: 1674-9905(2008)12-0015-03

甲壳素和壳聚糖是一类结构类似纤维素的氨基天然多糖聚合物, 资源丰富, 广泛分布于自然界中, 是各种甲壳纲动物和昆虫的壳体及真菌的细胞壁的主要成分。壳聚糖是甲壳素脱乙酰基后的产物, 分子中同时含有羟基和氨基, 化学性质比较活泼, 可在适当的条件下进行多种化学修饰, 形成不同结构和功能的衍生物^[1]。在众多的衍生物中, 令人最感兴趣的是磺化壳聚糖衍生物的研制。通过对壳聚糖的磺化修饰, 引入 $-\text{NHSO}_3$, $-\text{CHOSO}_3\text{H}$ 基团后得到类肝素的物质, 不但可以大大提高它们的水溶性, 而且在医药方面还表现出抗凝血, 抗栓, 抗动脉粥样硬化, 抗肿瘤和抗病毒^[2~3]等多方面的活性。本文对国内外壳聚糖硫酸酯的各种制备方法进行综述。

壳聚糖硫酸酯制备方法不同主要是由于壳聚糖的活性位点不同和所选用的磺化试剂的不同所致^[4]。壳聚糖是由 β -1,4 糖苷键连接, 糖基分子上的 C₃, C₆ 位上的 OH 和 C₂ 位的 NH₂ 比较活泼, 可在这 3 个位点进行化学修饰。通常的磺化试剂有: 浓硫酸, 氯磺酸, 三氧化硫/吡啶的混合试剂, 三氧化硫/二氧化硫混合试剂, 三氧化硫/二甲基甲酰胺(DMF), 氯磺酸/吡啶混合溶剂。根据以上不同的磺化试剂进行磺化壳聚糖方法的综述。

1 发烟硫酸/DMF 体系

G. Vikhoreva 等^[5]用每单位摩尔的壳聚糖中加

入 3~4 mol 发烟硫酸与 29 mol DMF 的混合磺化体系进行壳聚糖的磺化反应。磺化体系在 0~5 °C 下快速搅拌使之混合均匀, 然后在体系中加入壳聚糖, 反应在 60 °C 持续搅拌 3 h, 经过冷却, 丙酮洗涤, 综合, 透析, 提纯后得到壳聚糖硫酸酯。该体系的硫酸酯化反应可以在羟基和氨基上同时进行, 而产物具有较高的抗凝血活性。

2 氯磺酸/DMF 体系

王声宇等^[6]用二氯乙酸(5 mL)和 DMF(50 mL)与壳聚糖在 50 °C 混合制得壳聚糖溶液, 由氯磺酸(10 mL)与 DMF(50 mL)混合, 冰浴保温 1 h 后得到磺化试剂。将壳聚糖溶液、磺化试剂混合在不同温度下反应一定时间, 用无水乙醇沉淀, 静置 12 h, 过滤, 再用无水乙醇洗涤数次, 去离子水溶解, 用饱和碳酸氢钠溶液调 pH 至中性, 透析、冷冻干燥得到白色固体壳聚糖硫酸酯。其对金黄葡萄球菌和大肠杆菌都有一定的抑制效果。

邢荣娥等^[7], 马宝全等^[8]控制磺化试剂(氯磺酸/DMF)温度在 5 °C 下反应均匀, 然后将磺化试剂滴加到壳聚糖中, 在 40~60 °C 下反应 2~4 h, 得到较高分子量的壳聚糖硫酸酯。而 Huang 等^[9]在 80 °C 反应 4 h 也同样得到壳聚糖硫酸酯, 产物是 C-2, C-3, C-6 取代的混合体系^[10], 其对超氧自由基和羟基自由基有良好的清除作用, 同时具有优良的抗凝血和血栓的功效。

基金项目: 安徽理工大学引进人才基金(2007yb66)

作者简介: 程国君(1979-), 男, 教师, 从事高分子材料改性与应用研究, T el: 0554-6632230, e-mail: chengguojun0436@126.com

收稿日期: 2008-08-01

3 浓硫酸/氯磺酸混酸体系

梁媛媛^[11], 蒋珍菊^[12]设计了不同指标的壳聚糖硫酸酯化反应。首先在冰箱中(4 ℃)预冷一定比例的浓硫酸和氯磺酸的混合物, 将壳聚糖加入到 250 mL 的三口瓶中, 再加入 40 mL 的 DMF, 将三口瓶放入低温装置中搅拌, 使壳聚糖和 DMF 在低温下混合均匀, 然后用滴液漏斗缓慢滴加预冷后的浓硫酸/氯磺酸的混合体系试剂, 保持反应体系的温度, 滴加完毕后继续搅拌反应一定时间, 直到得到浅黄色粘稠液体为止。将产物倒入广口瓶中, 加入冷却的乙醚沉淀, 过滤, 将沉淀物用乙醇洗涤至中性, 过滤, 在 50 ℃干燥。

而王斌^[13]则将 2 g 高脱乙酰度壳聚糖于 250 mL 三口烧瓶中, 再加入 40 mL DMF, 将三口烧瓶放入低温装置中, 开动搅拌, 待混合均匀和温度降到反应温度时, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加一定量的浓硫酸, 控制浓硫酸滴加速度, 使反应体系温度保持在 5 ℃以下。滴加完毕继续反应 1 h 后, 再用恒压滴液漏斗缓慢滴加一定量的氯磺酸, 控制氯磺酸的滴加速度, 保持反应体系的温度在 5 ℃以下。滴加完毕在恒温下反应一定时间, 反应结束后, 得到浅黄色粘稠液体, 将液体倒入 500 mL 广口瓶中, 加入冷冻过的乙醚浸泡, 冷冻过夜。产物经过过滤, 乙醇洗涤, 干燥, 将干燥的壳聚糖硫酸酯用蒸馏水溶解, 移入透析袋, 用去离子水充分透析, 直到透析液中无 SO_4^{2-} 存在为止, 将透析后的溶液在 50 ~ 60 ℃下浓缩干燥, 即可获得纯净的磺化壳聚糖。两个过程得到的主要是 C-6 位的磺化产物, 且产物同样具有良好的抗凝血功能。

4 $\text{SO}_3/\text{吡啶}$ 体系

用 $\text{SO}_3/\text{吡啶}$ 体系作为磺化试剂, 进行必要的基团保护可以制备定位的壳聚糖硫酸酯产物。赵峡等^[14]对壳聚糖硫酸酯的定位制备做了详细的研究。

采用保护基团(Cu-螯合)工艺制备 C₆-O 位硫酸酯(6S), 由于壳聚糖分子结构上含有反应活性很强的氨基(-NH₂), 而氨基易与金属铜离子形成稳定的螯合物, 使氨基基团得到保护。并利用伯羟基和仲羟基的反应活性差异来使硫酸酯基只在 C₆-O 位上引入; 而选择性制备壳聚糖 C₂-N 位的硫酸酯(3S)需对 C₂-N 位氨基和 C₆-O 位羟基进行保护, 先将壳聚糖和邻苯二甲酸酐溶于 DMF 中反应得到

2-苯二甲酰亚氨基壳聚糖, 然后将产物溶于吡啶, 加入氯化三苯基甲烷制得 2-苯二甲酰亚氨基-6-O-三苯甲基壳聚糖, 将 2-苯二甲酰亚氨基-6-O-三苯甲基壳聚糖用水合肼去保护同时用 $\text{SO}_3/\text{吡啶}$ 进行硫酸酯化反应, 即可得到 3S。也可采用先制备 3S、6S, 再将其 6-O 位硫酸酯脱去得到了 3S, 避免了上述繁琐的操作。为选择性制备壳聚糖 C₂-N 位的硫酸酯(2S), 同样需避免 C₃ 和 C₆ 位羟基参与反应研究。表明脱硫肝素在碱性水溶液条件下用 $\text{Me}_3\text{N}-\text{SO}_3$ 或 $\text{SO}_3/\text{吡啶}$ 作为硫酸化试剂, 可使其 C₃ 和 C₆ 位羟基不参与反应, 受此启示, 将壳聚糖分散水中, 加入 Na_2CO_3 和 $\text{Me}_3\text{N}-\text{SO}_3$ 后在一定温度下反应, 干燥得到各种取代度的白色绒状固体 N-硫酸取代度的 2S 产物; 而壳聚糖 C_{3,6}-O 位的硫酸酯化物(36S)制备可采用邻苯二甲酸酐对 N-位氨基进行保护, 从而使硫酸酯化反应只发生在 C_{3,6}-O 位。邻苯二甲酸酐与壳聚糖的反应条件同制备 3S 的有关操作; 制备壳聚糖 C_{2,6} 位的硫酸酯(26S)可采用上述制备的 6S 的原料和制备 2S 的反应条件; 壳聚糖 C_{2,3} 位的硫酸酯(23S)的制备可按制备 3S 的反应条件先制备 6-O-三苯甲基壳聚糖, 对 C₆-O 位羟基进行保护, 然后再在此基础上进行硫酸酯化反应和脱保护即得; 壳聚糖 C_{2,3,6} 位的硫酸酯化(236S)是在壳聚糖各种可能活性位置进行硫酸酯化反应, 是一个非选择性的过程, 在没有对特定位置进行保护或限制反应活性的情况下, 大多数硫酸酯化试剂都可使硫酸酯基随机进入 C₂、C₃ 和 C₆ 各位置。

5 浓硫酸体系

蒋珍菊等^[15]直接用浓硫酸磺化壳聚糖, 得到壳聚糖 N-磺化衍生物, 其方法为: 将壳聚糖加入到圆底烧瓶, 冰浴条件下加入一定量的浓硫酸开始搅拌, 在非均相反应条件下得到白色粘稠液体, 产物用乙醇提纯, 真空干燥。此方法相对于上述的混合体系相比, 后处理较为简单, 而且容易控制。

除了上述的体系, 邬建敏等^[16]用自制的磺化试剂对壳聚糖进行硫酸酯化, 也同样得到硫酸酯化程度较高的壳聚糖硫酸酯产物, 其方法为: 将部分降解的壳聚糖用 DMSO 溶解, 加入适量用 30 mL DM-SO 溶解的自制的吡啶-N-磺酸, 在 80 ℃下搅拌反应数小时, 调节 pH 值到大于 7, 丙酮沉淀过滤, 透析, 低温干燥。经验证, 得到硫酸酯化的壳聚糖。

6 结语

肝素作为常用的临床抗凝血剂, 需从动物肝脏提取, 来源有限且价格贵. 由于磺化壳聚糖具有类肝素的结构和特征反应, 可为研制类肝素物质奠定基础. 磺化壳聚糖可以降低血液粘度, 降低血脂及纤维蛋白原含量, 在医药方面有广阔的开发前景. 由于壳聚糖硫酸酯的制备过程都较为苛刻, 如何简化制备方法是今后的研究重点.

参考文献:

[1] 王斌, 胡星琪. 准均相反应制备磺化壳聚糖[J]. 应用化工, 2005, 34(10): 628-631.

[2] 丁华, 祝清芬, 徐鲁源, 等. 几丁糖酯抗动脉粥样硬化作用研究[J]. 中国海洋药物, 2001, 20(1): 12-14.

[3] Jianhong Yang, Yumin Du, et al. Sulfation of chinese lacquer polysaccharides in different solvents [J]. Carbohydrate polymers, 2003, 52: 397-403.

[4] 蒋玉湘, 李鹏程. 壳聚糖硫酸酯制备方法[J]. 海洋科学, 2004, 28(6): 75-77.

[5] G. Vikhoreva, G. Bannikova, et al. Preparation and anticoagulant activity of a low-molecular-weight sulfated chitosan[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 62: 327-332.

[6] 王声宇, 张文清. 壳聚糖硫酸酯的合成及其抑菌作用[J]. 功能高分子学报, 2007, 19(4): 440-442.

[7] 邢荣娥, 刘松, 于华华, 等. 不同分子量壳聚糖和壳聚糖硫酸酯的抗氧化活性[J]. 应用化学, 2005, 22(9):

958-961.

[8] 马宝全, 黄伟林, 康伟, 等. 鲁氏毛霉发酵产物壳聚糖硫酸酯化的研究[J]. 离子交换与吸附, 2007, 23(5): 451-458.

[9] Ronghua Huang, Yumin Du, Lianshuang Zheng et al, A new approach to chemically modified chitosan sulfates and study of their influences on the inhibition of Escherichia coli and Staphylococcus aureus growth [J]. Reactive & Functional Polymers 2004, 59: 41-51.

[10] Preeyanat V, Warayuth S, Dumrat S, et al. Anticoagulant activity of a sulfated chitosan [J]. Carbohydrate Research, 2002, 337: 1239-1242.

[11] 梁媛媛. 壳聚糖硫酸酯化产物的合成及其抗凝血性能研究[D]. 西南石油学院, 2005.

[12] 蒋珍菊, 王周玉, 胡星琪. 硫酸/氯磺酸混酸酯化壳聚糖的研究[J]. 化学研究与应用, 2005, 17(3): 347-349.

[13] 王斌. 磺化壳聚糖的研制[J]. 西华师范大学学报(自然科学版), 2006, 27(1): 95-98.

[14] 赵峡, 于广利, 吕志华. 壳聚糖定位硫酸酯化的制备工艺[J]. 中国海洋药物杂志, 2002, (3): 15-21.

[15] 蒋珍菊, 王周玉, 冯冬. 硫酸磺化壳聚糖的研究[J]. 化学与生物工程, 2005, (4): 12-14.

[16] 邬建敏, 唐云湖, 王永尧, 等. 呱啶-N-磺酸作为壳聚糖硫酸酯化试剂的初步研究[J]. 东海海洋, 2001, 19(2): 39-42.

Preparation and Research Progress of Chitosan Sulfate

CHENG Guorjun¹, ZHONG Lei², WU Guozhong²

(1. School of Material Science and Engineering, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China;

2. Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

Abstract: Chitosan was a widespread natural polysaccharide, and the amino and two hydroxyl groups could be modified. The structure and feature of sulfated chitosan was similar to heparin, and could established the foundation for the preparation of heparin. The preparation techniques of chitosan sulfate were summarized.

Key words: chitosan; modification; chitosan sulfate