

改性壳聚糖树脂对利尿剂的吸附性能*

陈 飞 骆广生** 王玉军

(化学工程联合国家重点实验室 清华大学化学工程系 北京 100084)

摘 要 用琥珀酸酐、苯甲酸酐、聚乙烯亚胺和 3-氯-2-羟丙基三甲基氯化铵对壳聚糖进行改性,分别在其氨基上引入羧基、苯环、多氨基和季胺基,并利用红外谱图对于改性后的壳聚糖的结构进行了分析.应用相转移法制备了 4 种改性壳聚糖的微球,实验研究了这 4 种微球对 9 种不同利尿剂的吸附性能.结果表明,由于 Lewis 酸碱相互作用,引入羧基后的壳聚糖树脂对 3 种碱性利尿剂的吸附量有了 15% ~ 36% 的提高,而引入多氨基的壳聚糖树脂对四种酸性利尿剂的吸附量分别提高了 48.5% ~ 209%;由于苯环和利尿剂的憎水性基团的相互作用,引入苯环后的壳聚糖树脂对所有的利尿剂的吸附量都有所提高,其幅度为 15% ~ 61%;因为季胺基团和羧基之间发生的离子交换作用,引入季胺基后的树脂对具有羧基的利尿剂吸附量有显著的提高,尤其对布美它尼的吸附量提高了 2 倍以上.

关键词 改性壳聚糖,利尿剂,吸附

壳聚糖是甲壳素的 *N*-脱乙酰基产物,是一种天然的氨基多糖,分子中含有大量的游离氨基、羟基,容易发生取代,进行改性^[1].近几年来,壳聚糖作为一种新型的分离材料,在金属离子富集回收^[2-4],亲和色谱固定相^[5-7]以及药物吸附和控缓释的载体^[8,9]等方面得到了广泛关注,各种以壳聚糖为基础的分离功能材料如复合膜,复合微球等也成为研究热点^[10,11].Mi 等人曾研究了 4 种壳聚糖衍生物对消炎药吲哚美辛的负载能力^[12],但是其选择的药物不具有广泛的代表性.现有的研究体系多局限于重金属离子、生物大分子、蛋白质等方面的分离提纯方面,而使用壳聚糖负载或分离一般的药物小分子的研究较少.因此研究壳聚糖和改性壳聚糖对不同结构、不同性质药物的吸附能力,不仅可以为控缓释中的药物负载能力提供依据,同时在使用壳聚糖色谱固定相对普通药物进行分离、富集、检测方面也有重要意义.

本文根据物质间相互作用的基本规律,通过在壳聚糖上引入新的基团,对壳聚糖进行改性,制备了 4 种改性壳聚糖树脂,使用红外验证了改性后壳聚糖的结构.最后选择了常见的利尿剂,研究了改性壳聚糖树脂对不同性质利尿剂药物分子的吸附能力.

1 实验

1.1 仪器与试剂

壳聚糖(浙江玉环海洋生物化学公司),粘均分子量 $M_v = 1.5 \times 10^6$,脱乙酰度 95.1%. 9 种利尿剂为速尿(Furosemide)、布美它尼(Bumetanide)、利尿酸(Ethacrynic acid)、乙酰唑胺(Acetazolamide)、氨苯喋啶(Triamterene)、螺内脂(Spironolactone)、吲满速尿(Indapamide)、氯噻酮(Chlorthalidone)、氢氯噻嗪(Hydrochlorothiazide)(Sigma 公司).琥珀酸酐,苯甲酸酐(天津韦斯化学品公司),聚乙烯亚胺,乙二醇缩水甘油醚(日本东京化成),羟丙基三甲基氯化铵(Aldrich 公司),其他药品均为分析纯(天津韦斯公司),使用前不再纯化.扫描电镜 Hitach S-450(日立公司),付里叶变换红外光谱仪 Shimadzu FITR, IRPrestige-21(岛津公司),紫外-可见光分光光度计 Agilent 8453 UV-Visible(安捷伦公司),酸度计 Hanna pH201(意大利 Hanna 公司).

1.2 实验方法

1.2.1 交联壳聚糖树脂的制备 将 5 g 壳聚糖溶于 95 g 1% 的乙酸中,配成 5% 的壳聚糖乙酸溶液,用蠕动泵通过 7 号针头滴加到凝浴液中($\text{NaOH}:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O} = 2:4.5:2.5$).制得壳聚糖凝胶树脂微球,用去离子水深度润洗,其溶胀率约为 9.688.用乙二醇缩水甘油醚(EGDE)对壳聚糖微

* 2003-11-10 收稿,2004-02-16 修稿;国家自然科学基金资助项目(基金号 20206012);** 通讯联系人

球按照摩尔比 0.3:1 在 70℃ 下反应 3h 进行交联, 制得 EGDE 交联的壳聚糖微球 (EGDE-C-CS). 用环氧氯丙烷和壳聚糖微球按照摩尔比 0.3:1 在 40℃ 下反应 24 h, 制得环氧氯丙烷交联的壳聚糖微球 (ECH-C-CS).

1.2.2 壳聚糖树脂的改性 取环氧氯丙烷交联的壳聚糖树脂 50 g (湿重) 两份, 用乙醇深度润洗后分别置于 50 mL 乙醇中, 按摩尔比 1:1 分别加入琥珀酸酐和苯甲酸酐, 在 70℃ 下回流反应 24 h. 将得到的微球用去离子水润洗, 最终分别得到琥珀酸化和苯甲酸化的壳聚糖树脂 (SUC-CS 和 BEN-CS).

取 EGDE 交联的壳聚糖树脂 50 g (湿重), 用异丙醇润洗后置于 50 mL 异丙醇中, 按 1:3 的摩尔比加入环氧氯丙烷, 在 50℃ 下反应 2 h. 将得到的微球和 50 mL 30% 的聚乙烯亚胺在 80℃ 下反应 3 h, 最后用去离子水深度润洗, 得到多氨基化的壳聚糖树脂微球 (PEI-CS).

同样取 EGDE 交联的壳聚糖树脂 50 g (湿重) 置于 50 mL 二氧六环中, 按摩尔比 1:3 加入 65% 的 3-氯-2-羟丙基三甲氯化铵溶液, 在 70℃ 下反应 4 h. 最后用去离子水润洗得到季胺化的壳聚糖树脂微球 (QA-CS).

1.2.3 壳聚糖树脂的表征 按照文献 [13] 所述方法, 使用改进的酸减滴定法测量壳聚糖树脂中的游离氨基含量. 准确称量 0.2 ~ 0.3 g 完全干燥的壳聚糖样品, 置于 100 mL 三角瓶中, 加入标准的 0.1 mol/L 的盐酸 20 mL, 搅拌后静置 2 h, 然后加入 2 滴甲基橙指示剂, 用标准的 0.1 mol/L 的氢氧化钠滴定游离的盐酸, 每个样品测量 3 次. 最后的氨基含量 C_{amino} (mmol/g) 用式 (1) 计算:

$$C_{\text{amino}} = \frac{(V_1 - V_2)}{G} \quad (1)$$

式中 V_1 和 V_2 分别是加入的盐酸和消耗的氢氧化钠溶液的体积 (mL), G 为样品的重量 (g).

氨基得取代度 D_{cm} 用 (2) 式计算:

$$D_{\text{cm}} = \frac{C_{\text{amino}}}{1000/161} \times 100\% \quad (2)$$

其中 1000/161 为脱乙酰度为 100% 的壳聚糖中的氨基含量.

壳聚糖树脂微球的水溶胀率 (R_s) 用 (3) 式计算:

$$R_s = \frac{W_{\text{wet}}}{W_{\text{dry}}} \quad (3)$$

其中 W_{wet} 和 W_{dry} 分别为树脂微球的湿重 (g) 和干

重 (g).

使用 KBr 压片测定树脂的红外光谱, 分别与未改性的壳聚糖微球进行比较. 树脂的形貌使用扫描电镜观察.

1.2.4 吸附动力学、吸附容量及回收率的测定

将 2 g 壳聚糖树脂 (湿) 直接加入 50 mL 磨口锥形瓶中, 然后准确加入 20 mL 60 $\mu\text{g/mL}$ 的利尿剂溶液, 将锥形瓶放在 25℃ 的恒温摇床上, 转速 150 r/min, 间隔时间取上层清液 0.05 mL 用 50 μL 微量比色皿测量吸光度, 对比标准曲线得出浓度, 按照 (4) 式计算吸附量 q :

$$q = V_1(c_0 - c_t)/W \quad (4)$$

回收率按照下式计算:

$$R = (1 - c_t/c_0) \times 100\% \quad (5)$$

其中 V_1 是利尿剂溶液的体积, c_0 和 c_t 分别是起始浓度和一定时间后的浓度.

2 结果和讨论

2.1 改性壳聚糖的 FTIR 光谱和扫描电镜照片

图 1 所示为壳聚糖和改性壳聚糖的 FTIR 谱图. 由图中可以看出, 对于未改性的壳聚糖 CS, 3400 cm^{-1} 左右的宽峰是 O—H 和 N—H 的振动吸收峰的叠加, 2922 cm^{-1} 和 2881 cm^{-1} 附近是亚甲基的 C—H 伸缩振动峰, 1599 cm^{-1} 附近是 $-\text{NH}_2$ 的吸收谱带. 对于 SUC-CS 来说, 1737.7 cm^{-1} 和 1421.4 cm^{-1} 是羧基上 C=O 的吸收峰, 而 1664.8 cm^{-1} 和 1558.4 cm^{-1} 分别是酰胺谱带 I 和 II. 对于 BEN-CS 来说, 1716.5 cm^{-1} 是 C=O 的伸缩振动峰, 1651.0 cm^{-1} 和 1542.0 cm^{-1} 分别是酰胺谱带 I 和 II, 而 1456.2 cm^{-1} 和 711.7 cm^{-1} 处的峰则为苯环上 C=C 的伸缩振动和面外弯曲振动峰. 同时 SUC-CS 和 BEN-CS 的 1599 cm^{-1} 处的 $-\text{NH}_2$ 吸收

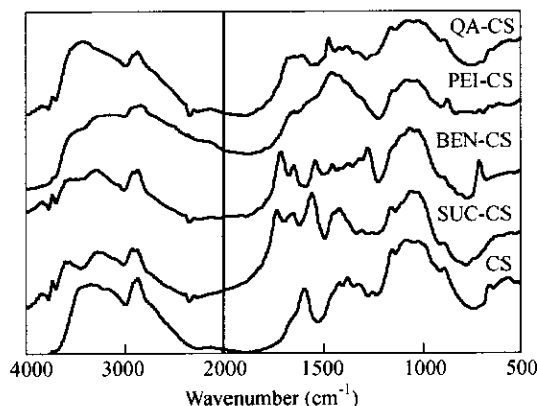


Fig. 1 FTIR spectra of chitosan and modified chitosans

峰大大减弱,同时 3400 cm^{-1} 处的宽峰也变尖,说明取代是在壳聚糖上的一 NH_2 进行的.对于 PEI-CS 来说,由于聚合物中 $-\text{CH}_2$ 含量大大增加,所以其在 2922 cm^{-1} 和 2881 cm^{-1} 的伸缩振动峰更强更明显. $1680\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ 之间的峰是聚乙烯亚胺链段上 NH_2 、 $-\text{NH}-$ 的混合吸收峰,比壳聚糖在 1599 cm^{-1} 附近 $-\text{NH}_2$ 的吸收峰更宽更强,说明引入了更多的氨基和亚氨基,而 1465 cm^{-1} 处的峰则是大量 $-\text{CH}_2$ 的强变形振动吸收带.对于 QA-CS 来说,壳聚糖中 $-\text{NH}_2$ 的强吸收峰 1599 cm^{-1} 消

失,在 1480 cm^{-1} 处出现 $-\text{CH}_3$ 的 C—H 的弯曲振动强吸收峰,表明壳聚糖的胺基上引入了羟丙基三甲基氯化铵的季铵盐侧链.

图 2 所示为壳聚糖和改性壳聚糖树脂微球的扫描电镜照片.可以看出,和未改性的壳聚糖树脂 CS 相比,SUC-CS、BEN-CS 以及 PEI-CS 树脂微球的断面可见大量 $100\sim 300\text{ nm}$ 左右的球形晶粒,晶粒间有 $50\sim 100\text{ nm}$ 左右的孔道.而 QA-CS 的断面较为致密,无轮廓清晰的晶粒,无可见孔道.

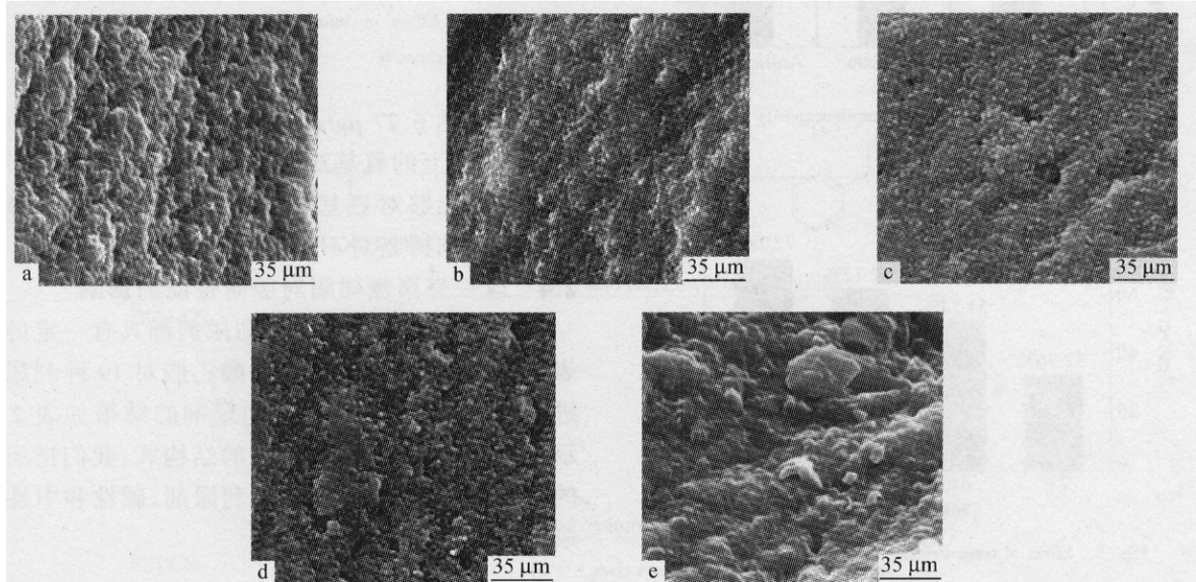


Fig. 2 SEM photographs of cross-sections of CS(a), BEN-CS(b), SUC-CS(c), PEI-CS(d), QA-CS(e)

2.2 改性壳聚糖的游离氨基含量和取代度

壳聚糖和改性壳聚糖树脂的氨基含量 (C_{amino})、取代度 (D_{em}) 及水溶胀率 (R_s) 如表 1 所示.可以看出,两种交联方法的交联度约在 10% 左右,这使得壳聚糖上还有较多的自由氨基可以进一步被取代.多氨基化壳聚糖 PEI-CS 因为改性过程中引入了氨基,所以不能通过氨基含量计算改性的取代度.

Table 1 Characteristics of chitosan resins

	C_{amino} (mmol/g)	D_{em} (%)	R_s
CS	5.922	4.68	9.69
EGDE-C-CS	5.575	10.26	8.64
ECH-C-CS	5.571	10.33	9.21
SUC-CS	2.689	56.72	5.71
BEN-CS	3.226	48.06	6.56
PEI-CS	11.433	-	6.24
QA-CS	2.589	58.32	7.23

2.3 未改性的壳聚糖树脂的吸附特性

为了研究改性壳聚糖树脂对利尿剂的吸附

性质,先以速尿、氨苯喋啶、苯胺为待吸附物质研究了未改性的树脂的吸附性质.图 3 为未改性壳聚糖树脂对这 3 种物质的动态吸附曲线,可以看出壳聚糖树脂对酸性利尿剂速尿的吸附效果要远好于碱性的氨苯喋啶和苯胺.图 4 为 pH 值对未改性树脂吸附性能的影响,结果显示在酸性条件下有利于酸性利尿剂的吸附,反之则有利于碱性物质的吸附.图 5 为树脂用量对吸附量的影响,树脂

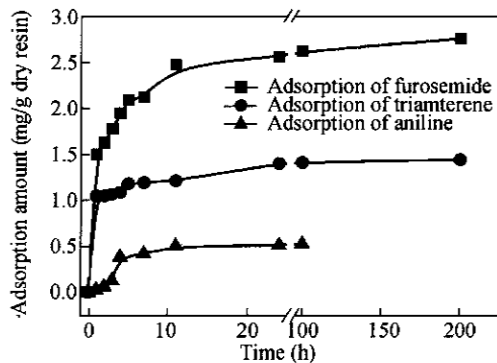


Fig. 3 Adsorption kinetics of unmodified chitosan

用量越多,则溶液中药物的回收率就越高.图 6 为利尿剂初始浓度对吸附量的影响,可以看出壳聚糖树脂对药物的负载量是和溶液中初始药物的浓度有关的,当速尿的初始浓度为 $400\mu\text{g/mL}$ 时的

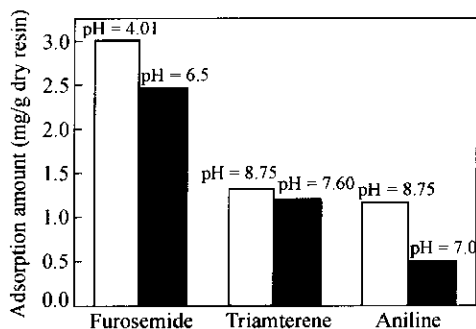


Fig. 4 Effect of pH on adsorption capacity

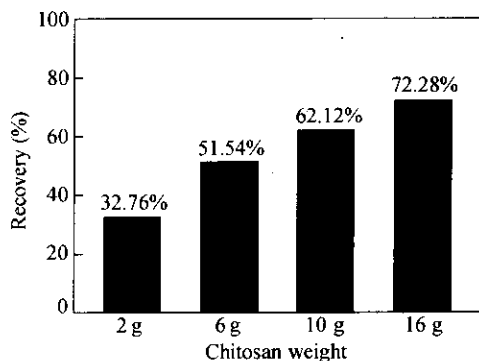


Fig. 5 Effect of resin weight on diuretics recovery

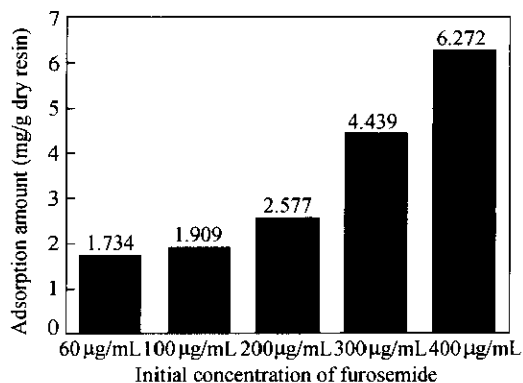


Fig. 6 Effect of initial concentration of furosemide on adsorption capacity

负载量可达 $6.27\mu\text{g/g}$ 干树脂.这些结果同时也说明,壳聚糖上的氨基对利尿剂的吸附起主要作用,所以如果能够对氨基进行取代,就可以有选择地增加壳聚糖树脂对不同性质药物的吸附能力.

2.4 改性壳聚糖树脂对吸附性能的影响

本实验中所选的 9 种利尿剂都具有一定的代表性,根据秦昶等人曾用乙酸乙酯对 19 种利尿剂进行提取^[14],其中这 9 种利尿剂的结果如表 2 所示.根据这个结果和利尿剂的结构式,我们把所选的利尿剂分为 3 大类,酸性利尿剂、碱性和中性利尿剂,如图 7 所示.

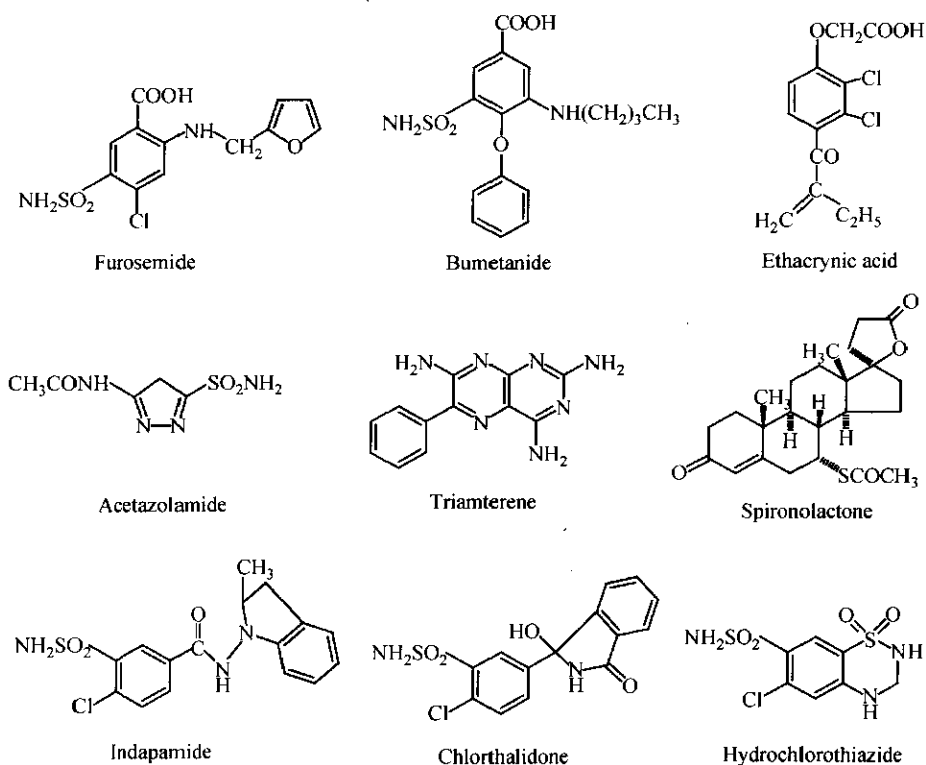


Fig. 7 Molecular structures of diuretics

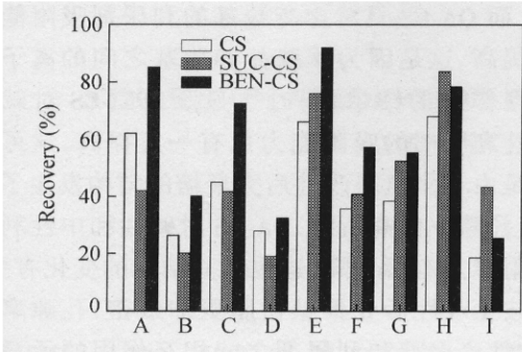


Fig. 8 Recovery of diuretics with chemically modified chitosan resin: SUC-CS and BEN-CS

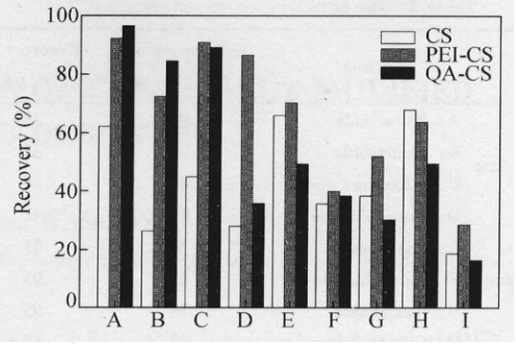


Fig. 9 Recovery of diuretics with chemically modified chitosan resin: PEI-CS and QA-CS

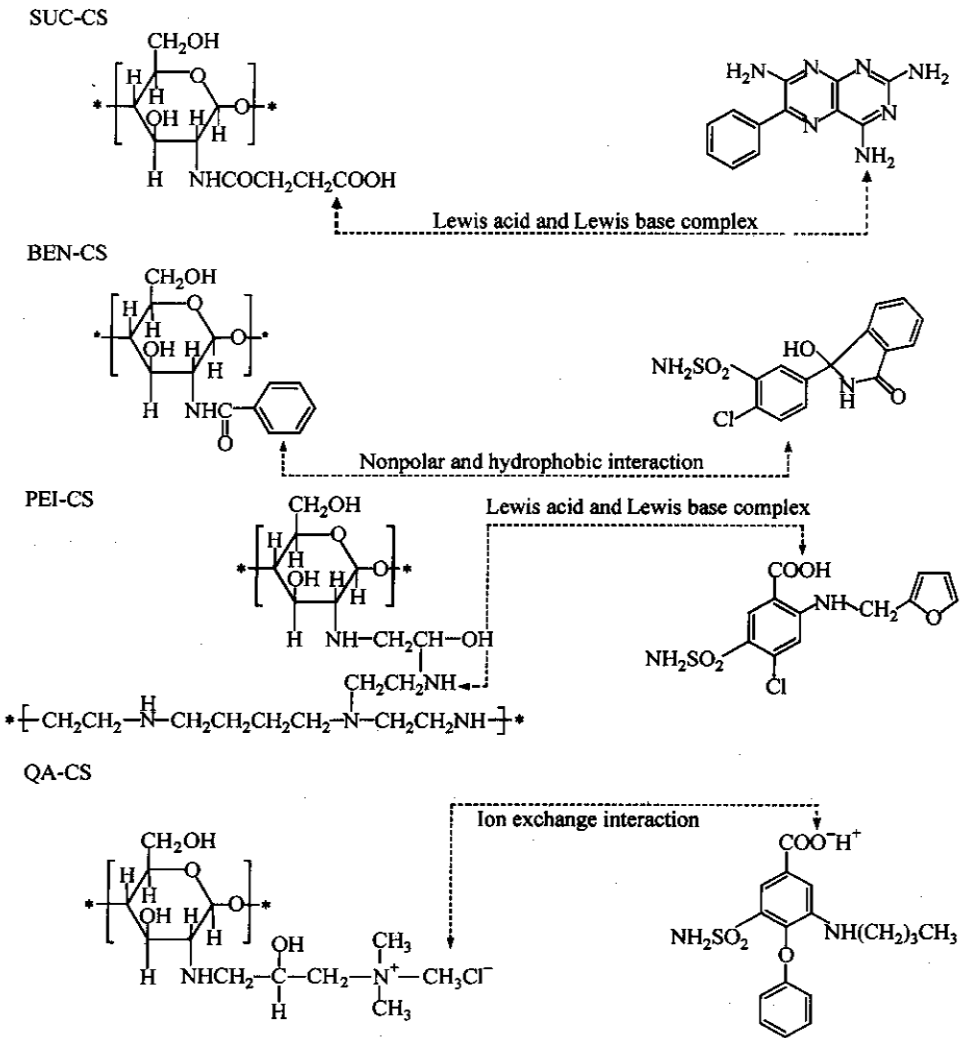


Fig. 10 Schematic chemical interaction between Diuretics and modified chitosan resin

图 8 为 SUC-CS 和 BEN-CS 树脂吸附能力的比较,由图中可以看出,SUC-CS 对碱性和中性利尿剂的吸附能力有所增加,而对酸性利尿剂吸附能力下降,这是羧基和作为 Lewis 碱的利尿剂之间相互作用的结果.BEN-CS 对所有利尿剂的吸附

能力都增加,尤其对非极性药物的结合能力显著增加,因为苯环的接入使整个壳聚糖分子的增水性增强,从而有利于非极性药物的吸附.

图 9 为 PEI-CS 和 QA-CS 树脂吸附能力的比较,可以看出,对于酸性的利尿剂,PEI-CS 的吸附

Table 2 The extraction recovery of diuretics^[14]

Drug		Recovery at pH = 5 R (%)	Recovery at pH = 9 R (%)
Acidic drug	A: Furosemide	93	28
	B: Bumetanide	90	35
	C: Ethacrynic acid	84	14
	D: Acetazolamide	83	0
Basic drug	E: Triamterene	9	81
	F: Spironolactone	82	95
	G: Indapamide	76	95
Neutral drug	H: Chlorthalidone	90	83
	I: Hydrochlorothiazide	94	78

能力大大增加,这是由于其氨基含量大大提高的

结果.而 QA-CS 只对含有羧基的利尿剂吸附能力大大提高,这是因为季胺盐和羧基之间的离子交换相互作用的结果.同时也显示, PEI-CS 对碱性和中性利尿剂的吸附能力也有一定提高,这主要是由于多氨基改性后壳聚糖的结构发生了变化,其孔隙率提高所致. QA-CS 对碱性和中性利尿剂吸附能力有所下降,这也和其结构的变化有关,即季胺化改性后壳聚糖树脂更加致密,孔隙率更小.改性壳聚糖和利尿剂之间相互作用的示意图如图 10 所示,其中横坐标 A ~ G 对应的药物可对照表 1.

REFERENCES

- 1 Majeti N V, Ravi K. *React Funct Polym*, 2000, 46(1): 1 ~ 27
- 2 Wang Aiqin(王爱琴), Zhou Jinfang(周金芳), Yu Xianda(俞贤达). *Acta Polym Sin(高分子学报)*, 2000, (6): 688 ~ 691
- 3 Tanja B, Michael S, Henry S. *React Funct Polym*, 2000, 44(3): 289 ~ 298
- 4 Lee S T, Mi F L, Shen Y J, Shyu S S. *Polymer*, 2001, 42(5): 1879 ~ 1892
- 5 Senso A, Oliveros L, Minguillón C. *J Chromatogr A*, 1999, 839(1-2): 15 ~ 21
- 6 Wang Y, Guo M L, Jiang Y M. *J Chromatogr A*, 2002, 952(1-2): 79 ~ 83
- 7 Wang Zheng(王峥), Guo Minliang(郭敏亮), Jiang Yongming(姜涌明), Wang Yun(王云), Jiang Shoulei(姜守磊), Chen Yun(陈云). *J Funct Polym(功能高分子学报)*, 2001, 14(1): 81 ~ 84
- 8 Peng Xianghong(彭湘红), Zhang Lina(张俐娜), Pan Xuelong(潘雪龙). *Acta Polym Sin(高分子学报)*, 2000, (4): 502 ~ 505
- 9 Matsumoto M, Shimizu T, Kondo K. *Sep Purif Technol*, 2002, 29(3): 229 ~ 233
- 10 Ho Yuhshan. *Biochem Eng J*, 2003, 15(1): 77 ~ 78
- 11 Chen F, Luo G S, Wang Y J. *J App Polym Sci*, 2004, 91: 3542 ~ 3548
- 12 Mi Fwolong, Shyu Shinshing, Chen Chinta, Lai Juinyih. *Polymer*, 2002, 43: 757 ~ 765
- 13 Jiang Tingda(蒋挺大). *Chitosan(壳聚糖)*. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2001, 91 ~ 93
- 14 Qin Yang(秦扬), Zhu Shaotang(朱绍棠), Zhang Changjiu(张长久). *J Instru Anal(分析测试学报)*, 2001, 20(2): 82 ~ 86

STUDIES ON ADSORPTION PROPERTIES OF CHEMICALLY MODIFIED CHITOSAN RESINS TO DIURETICS

CHEN Fei, LUO Guangsheng, WANG Yujun

(*State Key Lab of Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering Tsinghua University, Beijing 100084*)

Abstract Four types of chitosan beads, carboxylic chitosan (SUC-CS), benzoyl chitosan (BEN-CS), polyethyleneiminated chitosan (PEI-CS) and quaternaminated chitosan (QA-CS) were prepared using the wet phase-inversion method and chemical modification with the chemicals of succinic anhydride, benzoic anhydride, polyethyleneimine and 3-chloro-2-hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride. Carboxyl, aromatic acyl, polyethyleneimine and quaternary ammonium groups were induced to chitosan chains, and their structure was characterized by FTIR spectra. The adsorption ability of the chemically modified chitosan resins to nine kinds of diuretics was investigated. The results show that, compared to the unmodified chitosan, the benzoyl chitosan has higher affinity and capacity to almost all the diuretics due to the hydrophobic interaction between chitosan and drug molecule, while the carboxyl chitosan has higher binding affinity only to the basic diuretics. The polyethyleneiminated chitosan has 48% ~ 209% higher capacity to the acidic diuretics due to the increased concentration of amino groups on its chain. The adsorption ability of quaternaminated chitosan for the diuretics with carboxyl group is greatly improved, especially for the bumetanide, which is above 2 times higher than the unmodified one because of the strong interaction of ion exchange.

Key words Chemical modified chitosan, Diuretics, Adsorption