

聚 乙 烯 醇 载 体 的 研 究

II. 球状大孔水不溶性聚乙烯醇的 一步法制备及其功能化反应*

李福绵 邓 卓 高可重 杜兴文 冯新德

(北京大学化学系)

摘 要

聚乙烯醇与对苯二甲醛,以乙二醇,多缩乙二醇作致孔剂,以油包水型悬浮体系制备了球状大孔水不溶性聚乙烯醇。它可以进一步利用缩醛化反应,酯化反应得到含有叔胺基,羧基的功能性载体,后者还可以制成 N-羟基丁二酰亚胺的活性酯,在温和条件下与蛋白质或酶偶联。

我们在前文^[1]报道了直接以聚乙烯醇(PVA)为原料,对苯二甲醛作交联剂,通过油包水的悬浮体系,成功地以一步法制备了能满足使用要求的球状交联聚乙烯醇载体,并与活性染料中间体,对- β -硫酸酯乙砒基苯胺反应得到反应性载体。在此基础上,本文以乙二醇,三缩乙二醇作致孔剂,制备了具有一定比表面,孔径和孔容的球状大孔水不溶聚乙烯醇(略为 MR-C-PVA),并与对-N, N-二甲氨基苯甲醛(DMAB),乙醛酸,丁二酸酐反应得到多羟基的亲水性弱碱型,弱酸型树脂。所得含有羧基的 MR-C-PVA 还可以和 N-羟基丁二酰亚胺(NHS)反应,得到活性酯,它们在很温和的条件下可以和蛋白质或酶偶联。

实 验 部 分

MR-C-PVA 的制备^[2] 除在 PVA 水溶液中加入乙二醇或多缩乙二醇等致孔剂外,基本同前文。反应完成后,分离出所生成的球状物,在三倍体积的甲醇及少量浓盐酸下回流至少 2 小时。过滤,再用水充分洗涤三次,在湿润状态下保存。

比表面的测定^[2] 用染料吸附法,使 MR-C-PVA 在一定温度下,以一定浓度的次甲基蓝溶液达到吸附平衡,用 72 型分光光度计测定所吸附的次甲基蓝量,计算出比表面 ΔS 。

孔容及平均孔径的测定^[2] 使 MR-C-PVA 在蒸馏水中浸泡 10 小时后过滤,抽干至颗粒表面不含水分,即疏散无粘着现象,准确称重,求出每克树脂的浸水量,计算出孔容,由所得孔容及比表面,假设内孔有些呈圆柱体,有些呈圆锥体,以 $\bar{R} = 5V_p / 2\Delta S$ 计算出平

* 1980 年 9 月 1 日收到。

均孔径 $\bar{R}$.

MR-C-PVA 与 DMAB 的反应: 取折合为 0.5 克干重的 MR-C-PVA, 与溶有 1.5 克 DMAB 的 5 毫升浓盐酸溶液, 及 70 毫升蒸馏水. 在 60℃, 电磁搅拌下反应 4 小时, 过滤, 用水洗至洗涤液为中性, 用 10% Na_2CO_3 洗掉 HCl, 再用水洗至中性.

MR-C-PVA 与乙醛酸的反应: 取折合为 1 克干重的 MR-C-PVA, 5 克乙醛酸, 3 克 Na_2SO_4 , 2 毫升浓硫酸, 10 毫升水于三口瓶中, 在搅拌及 90℃ 下反应 3 小时. 过滤, 用水洗至中性. 得含有羧基的产物 MR-C-PVA-G-COOH.

MR-C-PVA 与丁二酸酐的反应: 取折合为 1 克干重的 MR-C-PVA, 用吡啶浸洗数次后, 与 4 克丁二酸酐, 20 毫升吡啶于三口瓶中, 在 60℃ 及搅拌下反应 6 小时, 过滤, 用水洗至无吡啶气味, 再用甲醇浸洗过夜. 过滤得 MR-C-PVA-S-COOH.

交换当量的测定^[3]: 取一定量的树脂, 用一定体积的标准酸或碱溶液浸渍过夜, 过滤, 再用标准碱或酸溶液滴定, 以求出弱碱型或弱酸型树脂的交换当量.

MR-C-PVA-S-COOH 或 MR-C-PVA-G-COOH 的 N-羟基丁二酰亚胺活性酯的制备及与蛋白质的偶联^[4]: 取折合为 1 克干重的含羧基 MR-C-PVA, 用无水 THF 浸洗三次后放入 50 毫升二氧六环中, 加入与 MR-C-PVA-S-COOH 或 MR-C-PVA-G-COOH 的羧基含量等克分子比的 NHS 及二环己基碳二亚胺 (DCCI), 在室温下搅拌 24 小时, 过滤, 用大量甲醇洗涤后, 用 THF 洗涤, 存放于无水二氧六环中.

上面所得的活性酯, 放于 pH 为 7.5 的硼酸缓冲溶液中, 加入酶液, 在室温下搅拌 20 小时, 即可按常规方法得到固定化酶.

结 果 与 讨 论

1. 关于致孔剂

为获得一定比表面, 孔容和孔径的球状大孔水不溶性聚乙烯醇, 我们选用乙二醇, 三缩乙二醇作致孔剂. 它们能与 PVA 水溶液混溶, 在成球之后, 其本身或与对苯二甲醛的可能反应物被苯萃取出来而留下孔穴. 致孔剂用量大于 40% 时, 体系呈乳浊液, 后处理困难. 不同致孔剂及用量下所得 MR-C-PVA 的比表面, 孔容及平均孔径示于表 1. 可以看到, 以三缩乙二醇作致孔剂时, 无论孔容或孔径都明显增大, 已达到一般大孔树脂的要求. 图 1、2 为扫描电镜照片, 可以看到形状基本上是圆球形, 这有利于填充反应柱, 而凹凸不平的表面状态有利于与反应物的接触. 当放大到 2 万倍时, 已能看见较大的孔, 如图 3 所示.

表 1 致孔剂及其用量对比表面、孔容及孔径的影响(以 7% 对苯二甲醛作交联剂)

致 孔 剂	用 量	比表面 ΔS (米 ² /克)	孔容 V_p (厘米 ³ /克)	孔径 $\bar{R}$ (Å)
乙 二 醇	10%	6.4	1.27	4940
乙 二 醇	20%	7.0	1.10	3850
三缩乙二醇	20%	>6.9	3.39	12170

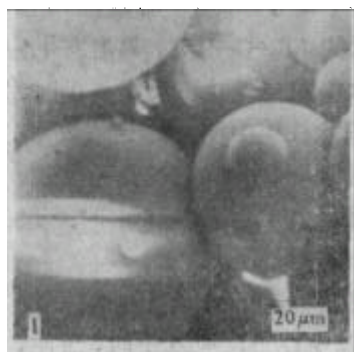


图1 MR-C-PVA 的形状
(镀金,扫描电镜)

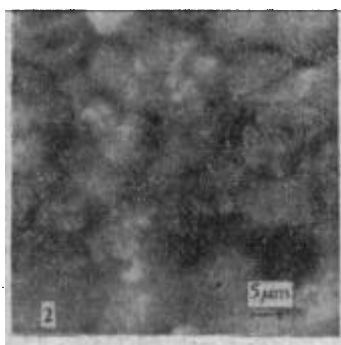


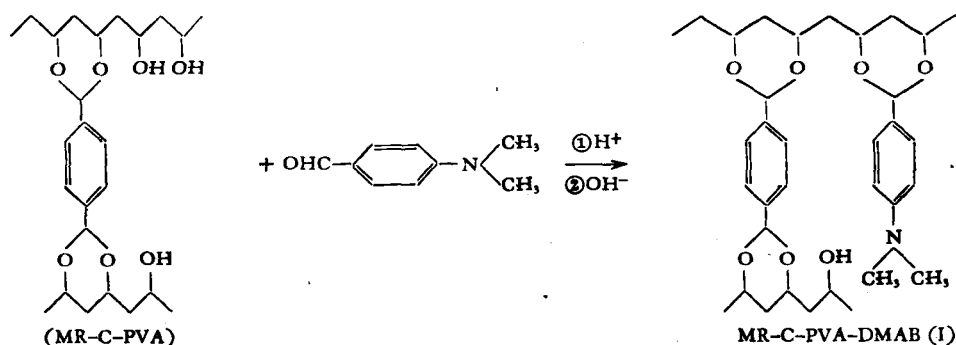
图2 MR-C-PVA 的表面状态
(镀金,扫描电镜)



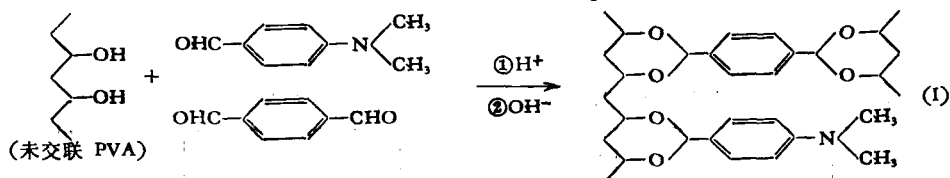
图3 MR-C-PVA 的孔洞状态
(条件同上)

2. MR-C-PVA 的功能化反应

(1) MR-C-PVA 与 DMAB 的反应: DMAB 与未交联 PVA 在酸性条件下,以醋酸酐作溶剂,通过缩醛化反应引入叔胺基^[5]。我们曾以 50% H_2SO_4 代替醋酸酐,并未发现导致 PVA 降解或着色的现象^[6]。对所得的 MR-C-PVA 球状物,以硫酸作溶剂,与 DMAB 反应按下式得到弱碱型树脂。

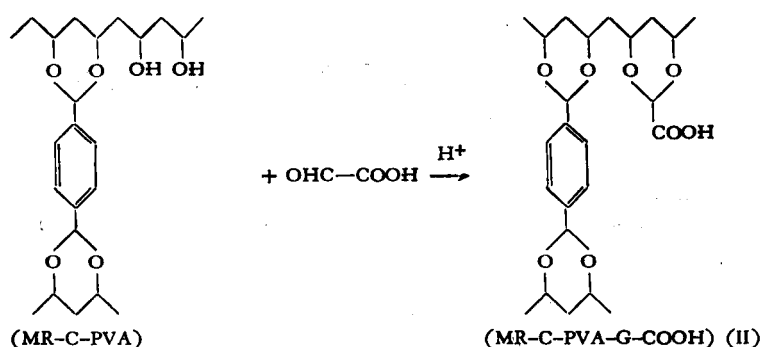


(I) 也可以直接由 PVA, 按前文^[4]报道的一步法,在成球的同时制得。如下式所示。

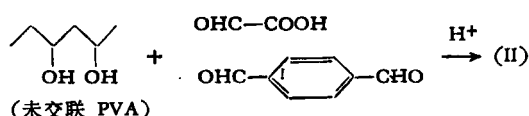


所得弱碱型 MR-C-PVA-DMAB 树脂 (I) 的交联当量 (mcq/g) 皆在 1.0—2.0。

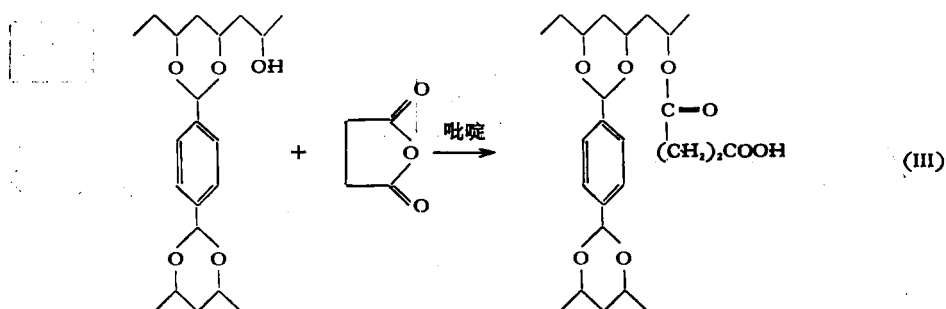
(2) MR-C-PVA 与乙醛酸的反应: PVA 与乙醛酸,通过缩醛化反应可以引入羧基^[7]。乙醛酸与 MR-C-PVA 在酸性条件下反应,可得弱酸型阳离子交换树脂。



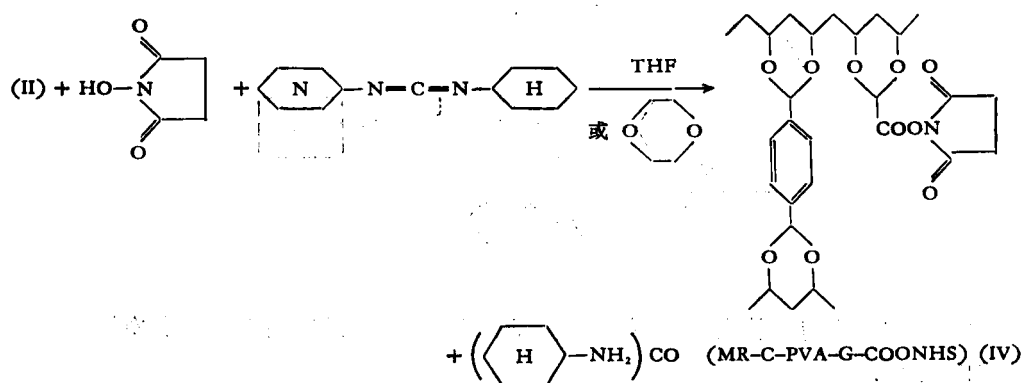
(II) 也可用一步法,按下式在成球时引入羧基而得到。所得(II)的交换当量(meq/g)皆在2.0—3.0。

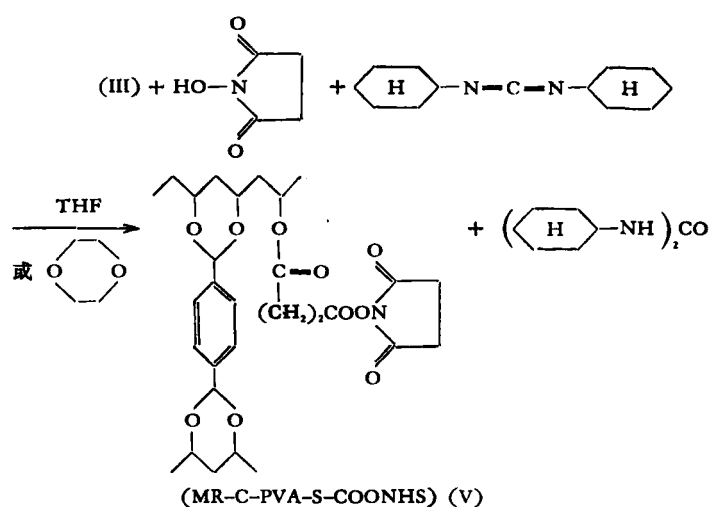


(3) MR-C-PVA 与丁二酸酐的反应: Ushakov^[8] 曾由丁二酸酐与未交联 PVA 进行酯化反应得到含有羧基的 PVA。我们以丁二酸酐与 MR-C-PVA 反应引入羧基,得到弱酸型阳离子交换树脂 MR-C-PVA-S-COOH (III), 其交联当量 meq/g = 1.50

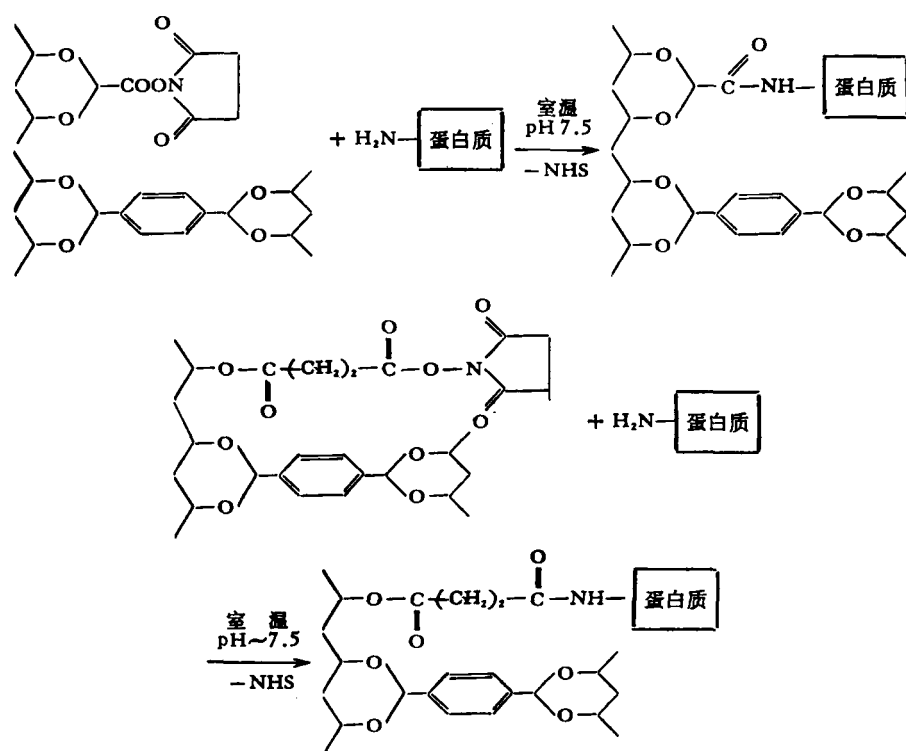


(4) 含有 NHS 活性酯的 MR-C-PVA: 上面所得的 (II) 及 (III) 与 NHS, DCCI 作用下,按下式得到 NHS 的活性酯。





(IV) 与 (V) 的红外光谱在 1750 cm^{-1} 处 (KBr) 都表现有内酰胺 >C=O 的特征吸收。其含氮量在 0.8—2.0%。它们在较温和条件下可以和蛋白质或酶偶联。(IV), (V) 与葡萄糖淀粉酶的偶联量分别为 196 毫克/克树脂, 59.3 毫克/克树脂。比活力分别为 7.6%, 3.9%。



结果说明, 所得球状大孔水不溶性聚乙烯醇经功能化反应可作离子交换树脂及生物催化剂的载体。

致谢 元素分析及红外光谱承北京大学化学系潘景岐、张新敬、王显仑、吕桂珍同志大力协助, 载体与酶的偶联及测定由中国科学院微生物研究所黎青翔同志进行, 谨敬谢忱。

参 考 文 献

- [1] 李福绵、李德昌、赵萍、李丽娟、冯新德, 科学通报, **25** (15), 695(1980); *Kexue Tongbao*, **25** (11), 916 (1980).
- [2] 厦门大学化学系高分子组, 石油化工, **5** 472(1977).
- [3] 湘脑, 西尾, 高分子实验学, 第七卷“机能性高分子”, p. 26, 共立出版(1974).
- [4] Cuatrecasas, P., Parikh, I., *Biochemistry*, **11**, 2291(1972).
- [5] Taniguchi, Y., *Polymer J.*, **7**(4), 519(1975); *Japan Kokai*, 75-127881; *Chem. Abstr.*, **84**, 137709s
- [6] 李福绵、肖剑声、冯新德, 未发表工作.
- [7] 本里義明等, 日本化学会誌, 1976(6), 999.
- [8] Ushakov, S. N., et al., *Zhur. Priklad. Khim.*, **21**, 118(1948); *Chem. Abstr.*, **43**, 6156i(1949).

STUDIES ON POLYVINYL ALCOHOL CARRIER

II. PREPARATION OF GRANULAR MACRO-RETICULAR WATER-INSOLUBLE POLYVINYL ALCOHOL AND ITS FUNCTIONALIZATION

Li Fumian, Deng Zhuo, Gao Kezhong, Du Xingwen and Feng Xinde
(Voong Singtuh)

(Department of Chemistry, Peking University)

ABSTRACT

The granular macro-reticular water-insoluble polyvinyl alcohol was prepared directly from PVA with terephthaldehyde as crosslinking agent and ethylene glycol or teteraethylene glycol as diluent via water in oil type suspension system. It has been acetylyzed or esterified to obtain tertiary amine group or carboxy group containing functional carriers. The carboxy group containing carriers would react further with N-hydroxysuccinimide to give the active ester which would conjugate effectively with protein or enzyme under mild condition.