

一种新的可生物降解聚碳酸酯及其加速降解的研究

黄霞¹, 郑元锁², 高积强¹, 陈家昌¹

(1. 西安交通大学材料强度国家重点实验室, 陕西 西安 710049;

2. 西安交通大学理学院, 陕西 西安 710049)

摘要:以天然 α -氨基酸为原材料合成了环二肽, 并以环肽为聚合单体合成了一种新的主链包含水解键与酶解键的碳酸酯。表征了合成单体与聚合物的化学结构, 分析了合成聚合物的热性质, 并用 W/O 法制备了该聚合物的水解试样, 对试样进行了 2 种浓度碱性介质的加速水解实验。实验结果表明聚合物具有良好的水解性能, 其水解率对碱性降解液的浓度有一定依赖性, 并表征了其在水解过程中的表面形貌变化。

关键词: L-酪氨酸; 环二肽; 拟聚碳酸酯水解; 生物降解

中图分类号: TQ342.24

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2007)07-0032-03

Comparative evaluation about degradation of a novel biodegradable polycarbonate in different concentration of alkaline solution

HUANG Xia¹, ZHENG Yuan-suo², GAO Ji-qiang¹, CHENG Jia-chang¹

(1. State Key Laboratory for Mechanical Behavior of Materials, Xi'an 710049, China;

2. School of Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: A 'pseudo'-poly(amino acids) was synthesized using cyclic dipeptide, a new diphenolic monomeric molecule which was obtained from natural L-tyrosine, with alternating nonpeptide bonds with peptide bonds structure in the backbone of biodegradable polymer. The structure of the synthesized monomer and polymer was characterized. The polymer's thermal property was analyzed, and the hydrolyzed sample of it was prepared and studied with alkaline aqueous solution of two different concentrations for accelerating hydrolysis. The results showed that the polymer has good performance of hydrolysis which depended the concentration of alkaline aqueous solution. The morphology of surface in the hydrolysis were also shown.

Key words: L-tyrosine; cyclic-dipeptide; 'pseudo'-polycarbonate hydrolytic degradation; biodegradation

目前合成的可降解生物材料中已经得到大量应用的是聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA), 及其共聚物 PLGA^[1-4]、共混物 PLAGA。这些聚酯基本可以在几周至几年内完全被吸收, 吸收的时间长短取决于在加工处理过程中引起结晶的结晶程度。此类聚合物的降解率受到积累在聚合物基体羧酸末官能团的自催化作用, 导致不同形状的样品有不同的侧链降解分布。尽管此类聚合物有好的生物相容性^[5]及温和的异体反应^[6], 但是有研究显示聚乳酸基移植体的周围有骨吸收现象, 这表明累计的酸性降解产物的突释刺激了细胞, 特别是结晶度比较高的 PLA 成型 3~6 年后在移植位置附近会引起轻微的溶胀^[7]。作为人体蛋白质主要组分的氨基酸渐渐引起注意, 聚氨基酸成本较高, 并且主链上的重复酰胺键导致

该种聚合物具有较高的热处理温度, 并且不易溶于普通有机溶剂。而拟聚氨基酸^[8-9]既保留了天然氨基酸生物相容性好、无毒、无异物反应的优点, 又因为其主链上酰胺键与非酰胺键交替排列的特点从而避免了聚氨基酸的诸多缺点, 是一类极其理想的生物材料。多数拟聚氨基酸的研究中使用的聚合单体均为线性肽^[10-12], 而由天然氨基酸合成的线性肽具有口服药效差以及酶解性能差的缺点^[13], 不适于作药物载体材料, 且环肽比线性肽具有更好的生物相容性与稳定性。笔者以天然酪氨酸为原材料合成了环二肽, 并以此为聚合单体合成了一种新的可生物降解的聚碳酸酯, 对此聚合物的结构、物理化学性能进行了表征, 并对其进行了碱性介质的加速降解以及表征。

收稿日期: 2007-03-23

作者简介: 黄霞(1978-), 女, 博士生; 郑元锁(1958-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事橡胶复合材料的制备改性、耐高温、阻燃高分子材料以及生物高分子材料方面的研究, 通讯联系人, 029-82660571, yszheng@mail.xjtu.edu.cn。

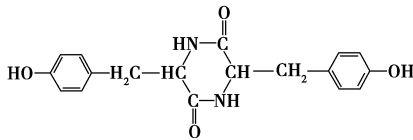
1 实验部分

1.1 主要原料

L-酪氨酸,生物试剂,南通东部氨基酸有限公司;环二肽,自制;乙二醇、三光气、二氯甲烷、三乙胺、乙醇、氢氧化钠、聚乙烯醇、二甲亚砜,均为市售分析纯。

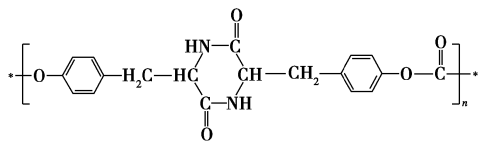
1.2 单体合成

L-酪氨酸在乙二醇中回流 20 h 以上^[14],用乙醇重结晶 3 次,得到白色粉末,分别用傅里叶变化红外光谱(FT-IR)和核磁共振(NMR)表征其化学结构,与文献测试结果基本一致。合成的环二肽结构为:



1.3 聚碳酸酯的合成

将一定量的环二肽与一定浓度的氢氧化钠溶液混合搅拌,而后向混合物中缓慢滴加三光气的二氯甲烷溶液,继续搅拌,而后滴加少量三乙胺^[15]。反应结束后,用正己烷沉淀,并用去离子水反复冲洗至洗液呈中性。合成的聚碳酸酯结构如下:



1.4 水解研究

采用改良的溶剂挥发法制备水解试样。配制 0.1 g/mL 的聚碳酸酯/二甲亚砜(DMSO)溶液 10 mL 作为油相(O),1%的 PVA 水溶液 200 mL 作为连续水相(W),将聚合物溶液用注射器缓慢加入 PVA 水溶液中,溶液中立即出现白色絮状沉淀,而后在 25℃ 持续搅拌 4 h 使有机溶剂充分挥发。过滤收集试样,用去离子水反复冲洗尽量去除 PVA。冷冻干燥 48 h,得表面平滑的白色海绵体。分别配制浓度为 1、6 mol/L 的氢氧化钠溶液作为水解媒介,在 37℃ 条件下进行加速水解测试。

2 结果与讨论

2.1 单体合成结构表征

环二肽的 IR 谱图中 3 360 ~ 3 310 cm^{-1} 属于 —NH—,约 1 660 cm^{-1} 属于 C(N)=O。与 *L*-酪氨酸的红外谱图比较,发现 *L*-酪氨酸中的伯胺(—NH₂)吸收峰变成了 3 232.70 cm^{-1} 区域的仲胺

(—NH—)的宽峰。*L*-酪氨酸中的 C—NH₂ 拉伸峰 1 020 cm^{-1} 转变成 C—NH 拉伸峰 1 125.11 cm^{-1} ,进一步印证了结果。其他的特征峰包括苯环上的(C—H)拉伸在约 3 045 cm^{-1} ,脂肪族 sp³ 杂化(C—H)拉伸在 2 960 ~ 2 860 cm^{-1} ,CH₂ 剪切变形在约 1 460 cm^{-1} ,C—C 拉伸在约 1 200 ~ 1 100 cm^{-1} 。NMR 中 N—C=O 的位移 167.580,苯环上的 4 个碳原子位移为 155.552、131.518、127.021、115.537,以及 CH 的位移 63.282,CH₂ 的位移 55.542;OH 的位移 9.1934。结合以上 NMR 与 FT-IR 的分析结果,可以确认环二肽的结构。

2.2 聚碳酸酯结构以及物理化学性质表征

聚碳酸酯的红外谱图中,1 766.42 cm^{-1} 属于 —C=O,与 1 238.12 cm^{-1} (Ar—O—C) 共同说明生成了芳香族的碳酸酯键—C(O)=O 结构,与环二肽一样,在 3 360 ~ 3 310 cm^{-1} 区域的出现(—NH—)的特征峰,以及 C(N)=O 的 1 662.57 cm^{-1} 。来自环肽的 C—H 特征峰为 2 948.91 cm^{-1} ,其他的特征峰包括苯环上的(C—H)拉伸在约 3 045 cm^{-1} ,脂肪族 sp³ 杂化(C—H)拉伸在 2 960 ~ 2 860 cm^{-1} ,CH₂ 剪切变形在约 1 455.26 cm^{-1} ,C—C 拉伸在 1 102.61 cm^{-1} ;同时在 ¹H-NMR 谱图中可以看到,8 以上的羟基位移较之于环肽弱了很多,这表明羟基与三光气缩聚生成了预期结构的聚碳酸酯。

聚碳酸酯的凝胶渗透色谱法(GPC)分析结果:用 DMSO 作为流动相,聚碳酸酯的 M_w (相对重均分子量)约为 2 673 027, M_n (相对数均分子量)约为 1 997 548, P_d 为 1.338154。

差示扫描量热(DSC)测试结果说明聚合物的玻璃化转变温度 T_g 为 80 ~ 90℃,聚碳酸酯的热降解最大质量损失出现在 350℃ 以上,与此相比纯聚酪氨酸几乎没有明显的 T_g ^[11],这表明合成的聚碳酸酯比聚氨基酸具有更宽的热处理温度范围以及更好的热处理性能。

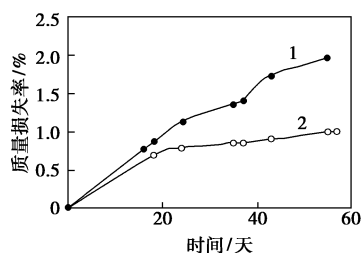
X 射线衍射(XRD)分析结果显示聚合物基本为无定形物。这与聚合物具有较低的 T_g 是一致的。同时因为聚合物的水解与酶解均对聚合物的无定形有更强的进攻能力,可以合理地推测合成的聚碳酸酯具有良好的降解性能。

2.3 水解研究

2.3.1 试样的质量损失

试样在 2 种浓度碱液中的质量损失都不明显,图 1 是质量损失与时间的关系曲线,试样在 2 种浓度碱液中的质量损失都表现为 4 个阶段。最初的

20 天左右,曲线斜率较大,估计为试样表面的低聚物与低分子量部分的水解情况的反应,而后的十几天,水解率减慢,此后数天由于外部剥离,碱液渗透,水解率再度增大,而后又进入持续的平缓水解阶段。在 6 mol/L NaOH 溶液中水解的试样质量损失曲线斜率在各阶段水解速率都大于在 1 mol/L 中的情况,可以看出水解率对降解环境的离子浓度有一定的依赖性。

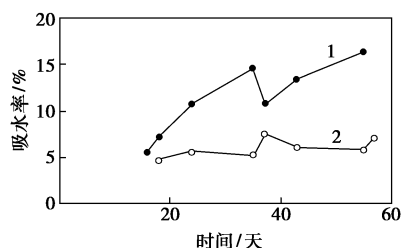


碱液浓度:1—6 mol/L;2—1 mol/L

图 1 试样在 2 种浓度碱液中的质量损失与时间的关系

2.3.2 试样的水吸收

试样在 2 种浓度碱液中的吸水率存在明显差异,在高浓度碱液中的吸水率明显高于在低浓度碱液中的。孵化过程中吸水率基本遵循随时间逐渐递增的规律,如图 2 所示,在 6 mol/L 碱液中孵化 16 天吸水率就达到了 10.72%,孵化 55 天后达到 16.32%,而在 1 mol/L 碱液中孵化 57 天后吸水率才达到 7.18%。导致这种差异的原因可能是渗透现象以及 2 种浓度溶液中离子的强度不同。



碱液浓度:1—6 mol/L;2—1 mol/L

图 2 试样在 2 种浓度碱液中的吸水率

2.3.3 试样的表面形貌变化

图 3 所示为试样在 2 种碱液中不同阶段的形貌变化,(a)为试样孵化前的表面形貌,(b)为试样在 1 mol/L 碱液中孵化第 57 天的表面形貌;(c)、(d)分别为试样在 6 mol/L 碱液中孵化第 43 天、55 天的表面形貌。可知聚碳酸酯表现为均相的表面溶蚀,开始阶段没有明显变化,43 天以后试样表面出现细碎孔洞,表明开始有碎片从试样表面剥离;55 天后,细

碎孔洞数量增多后连成较大、深的坑槽,表面腐蚀情况加剧。显而易见,试样在高浓度碱液中的腐蚀速率明显高于在低浓度碱液中的情况。

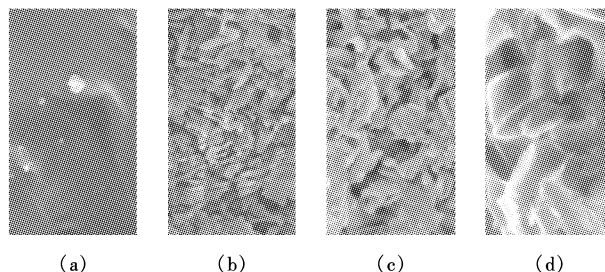


图 3 试样在 2 种浓度碱液中的 SEM 形貌

3 结语

以天然氨基酸为起始材料合成了一种新的拟聚氨基酸聚碳酸酯,这种聚碳酸酯具有氨基酸的良好生物相容性。这种聚酯的结构特点为主链上肽键与非肽键的交替排列,聚合单体为性能优于线性肽的环二肽。这种聚碳酸酯与聚酪氨酸相比具有较低的玻璃化转变温度与较高的热降解温度,这为它的热成型处理提供了较宽的温度范围。长达 57 天的加速水解实验表明,该聚酯因为具有酯键与酰胺键而表现出较好的水解性能,其水解行为符合均相表面溶蚀的一般规律,并且在高浓度碱液吸水率与质量损失率均大于在低浓度碱液,表明这种聚碳酸酯对降解媒介的离子浓度具有一定的依赖性。

参考文献

- [1] Kenley R A, Lee M O, Mahoney R T II, *et al.* Poly(lactide-co-glycolide) decomposition kinetics in vivo and in vitro[J]. *Macromolecules*, 1987, 20(10): 2398 - 2403.
- [2] Park T G. Degradation of poly(*D, L*-lactic acid) microspheres: Effect of molecular weight[J]. *J Controlled Rel*, 1994, 30(2): 161 - 173.
- [3] Alis A M, Doherty P J. Mechanisms of polymer degradation in implantable devices: 2. Poly(*D, L*-lactic acid)[J]. *J Biomed Mater Res*, 1993, 27(11): 1409 - 1418.
- [4] Reed A M, Gilding D K. Biodegradable polymers for use in surgery: Poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and copolymers: 2. In vitro degradation[J]. *Polymer*, 1981, 22(4): 494 - 498.
- [5] Piskin E. Biodegradable polymers as biomaterials[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1995, 6(9): 775 - 795.
- [6] Gilding D K, Reed A M. Biodegradable polymers for use in surgery: Polyglycolic/poly(lactic) homo and copolymers[J]. *Polymer*, 1979, 20: 1459 - 1464.
- [7] Bergama J E, Bruijn W C D, Rozema F R, *et al.* Late degradation tissue response to poly(*L*-lactide) bone plates and screws[J]. *Biomaterials*, 1995, 16(1): 25 - 31.

(下转第 36 页)

温柱式玻璃反应釜(容量为 1 500 mL),配有外部热油循环自动控温装置,经干燥的氯气和氧气计量混合后由通往底部的玻璃毛细管导入反应器,氯气尾气由 NaOH 溶液吸收。

1.2 合成方法

将约 800 g 十二酸加入反应釜,恒温油浴加热 40℃使十二酸熔化,同时通入氮气保护。按比例缓慢滴加一定量的催化剂氯磺酸(质量为十二酸的 1%~2%),开动搅拌使其与十二酸混合均匀;将油浴温度缓慢加热到相应的反应温度,停止通入氮气。毛细导气管中通入氯气与氧气的混合气体(体积比 2:1)。通过毛细管装置间隔取样,反应既定时间后停止通入氯气和氧气的混合气体,再次通入氮气保护并将体系温度降到室温。

1.3 分析方法

用乙醚和 NaCl 溶液对 α -氯代十二酸的粗产品进行萃取分离,取上层液体旋转蒸发掉乙醚后真空干燥,得到白色晶体。用 WL-1 型显微熔点仪(测定误差 $\pm 0.5^\circ\text{C}$)测定熔点:36.5~37℃。IR(仪器为 FTLA 2000-104 型,ABB,温岭福利分析仪器有限公司): $\nu_{\text{C=O}}$, 1 726 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$ (90Q 型核磁共振仪,氘代氯仿为溶剂,TMS 外标): $\delta = 4.15(\alpha\text{-H})$,表明所得产品为 α -氯代十二酸。

反应得到的粗产品用适量的乙醚和 NaCl 水溶液萃取(用水洗涤至水层呈现中性),挥发乙醚经甲酯化衍生处理后取上层醚层,运用 GC 进行 α -CDA 含量分析(面积归一化法)。气相色谱仪型号为 FULI 9790,其数据采集及处理系统为 SrAdv 色谱工作站,配备 SE54 毛细管柱色谱柱,FID 检测器。分析条件:进样量 2 μL ,柱温为 200℃,进样和检测器

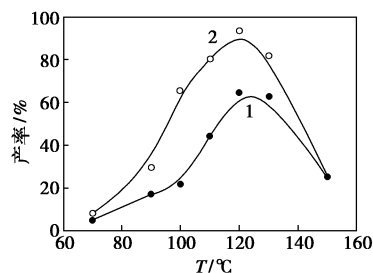
温度均为 280℃,载气(N_2)流量为 35 mL/min。

2 结果与讨论

实验主要考察反应温度、反应时间、氯气流量、氯磺酸加入量和搅拌速度等参数对十二酸 α -氯代反应的影响,筛选能用于放大生产 α -CDA 的工艺参数。考虑 O_2 用量过大会增加氯气逃逸,自由基捕捉剂的用量为:氯气与氧气体积比 2:1。

2.1 反应温度对十二酸 α -氯代反应过程的影响

由图 1 可见,不同反应时间内 α -CDA 产率并不随反应温度升高而单调增加。在 70~160℃ 温度区间内, α -CDA 的产率在 120℃ 时达到峰值,更高的反应温度不利于反应产率的提高。这是由于高温虽然有利于加快反应速度,但对气液相反应体系而言,温度升高也加速了氯气和氧气的逃逸,当后者的影响起主要作用时, α -CDA 的产率下降。



反应时间:1—1.5 h;2—2.5 h

$m(\text{氯磺酸}):m(\text{十二酸})=2\%$,搅拌转速 1 000 r/min,

氯气流量 40 L/h,氧气流量 20 L/h

图 1 反应温度对 α -CDA 产率的影响

2.2 氯磺酸加入量对 α -CDA 产率的影响

催化剂用量过大会给产品分离提纯带来一系列问题。尽管文献报道 15%^[8]和 6.7%^[7]氯磺酸添加量可得到较高的产率,但不具有工业意义。由图 2

(上接第 34 页)

- [8] Kohn J, Langer R. A new approach to the development of bioerodible polymers for controlled release applications employing naturally occurring amino acids[J]. Polymeric Materials, Science and Engineering, American Chemical Society. 1984, 51: 119-121.
- [9] Kohn J, Langer R. Polymerization reaction involving the side chains of *L*-amino acids[J]. J Am Chem Soc, 1987, 109: 817-820.
- [10] Bourke S L, Kohn J. Polymer derived from the amino acid *L*-tyrosine: Polycarbonates, polyarylates and copolymers with poly(ethylene glycol) [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2003, 55: 447-466.
- [11] Gupta A S, Lopina S T. Synthesis and characterization of *L*-tyrosine based novel polyphosphates for potential biomaterial applications[J]. Polymer, 2004, 45: 4653-4662.

- [12] Gupta A S, Lopina S T. Properties of *L*-tyrosine based polyphosphates pertinent to potential biomaterial application [J]. Polymer, 2005, 46: 2133-2140.
- [13] Cabrele C, Langer M, Beck-Sickinger A G. Amino acids side chain attachment approach and its application to the synthesis of tyrosine-containing cyclic-peptides[J]. J Org Chem, 1999, 64: 4353-4361.
- [14] Cook B, Hill R R, Jeffs G E. Efficient one step synthesis of diastereoisomeric cyclic dipeptides from amino acids: Three diastereoisomers of cyclo-*L*-isoleucyl *L*-*L*-isoleucine[J]. J Chem Soc Perkin Trans, 1992, 10: 1199-1201.
- [15] Pulapura S, Kohn J. Tyrosine-derived polycarbonates: Backbone-modified 'pseudo'-poly(amino acids) designed for biomedical applications [J]. Biopolymers, 1992, 32: 411-417. ■