

壳聚糖维生素 C 复合物的合成及性能

田晓琳 田大丰 莫凤奎*

(沈阳药科大学药学院 沈阳 110016)

摘 要 通过离子间静电引力作用合成了壳聚糖维生素 C 复合物。采用红外光谱和差热分析测试技术表征了复合物的结构。溶解度测定结果表明,该复合物具有水溶性。邻苯三酚自氧化速率测定结果表明,该复合物对 $\cdot\text{O}_2^-$ 的清除作用优于壳聚糖。

关键词 壳聚糖,维生素 C,复合物

中图分类号:O636.1

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2010)02-0243-03

DOI:10.3724/SP.J.1095.2010.90039

壳聚糖具有生物相容性和生物可降解性,因此,被认为是一种理想的聚合物载体药用辅料^[1]。壳聚糖在生理环境中的溶解性较差,使其在医药领域应用受到限制。为改善壳聚糖的溶解性和制备具有特定生物活性的壳聚糖衍生物,因而化学修饰多在 C3 和 C6 位的羟基及 C2 位的氨基上引入功能基团^[2]。维生素 C 是生物体内常见的抗氧化性物质,但遇光、空气及高温时极不稳定。为增加维生素 C 的稳定性,人们合成了各种衍生物如金属盐(钠盐、钙盐等)、醚、酯及多糖衍生物等^[3]。壳聚糖含有在酸性介质中可质子化的氨基,维生素 C 含有酸性的羟基官能团,二者可通过离子间静电引力作用形成复合物。本文研究了壳聚糖维生素 C 复合物的合成方法并进行了结构表征,同时测定了其溶解度及体外抗氧化性。

壳聚糖(浙江金壳生物化工有限公司),粘均分子量 85.6×10^4 Da,脱乙酰度 84%;维生素 C(东北制药集团有限公司);实验用水为双蒸水,邻苯三酚及其它试剂均为分析纯。

IFS-55 型傅立叶变换红外光谱仪(德国 Bruker 公司);UV-9100 型紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器厂);DSC60 型差示扫描量热仪(日本岛津公司)。

将 250 mL 三径瓶中装入 6.0 g 壳聚糖和 60 mL 异丙醇,通入 N_2 气并搅拌 1h,加入 25 mL 溶解有 6.62 g 维生素 C 的水溶液,搅拌 30 min,加入 26 mL 异丙醇和 11 mL 蒸馏水的混合溶液,继续搅拌 2 h, N_2 气保护下过滤,回收固体产物。 N_2 气保护下采用 160 mL 异丙醇和 40 mL 水的混合溶液洗涤 1 次,再加入 200 mL 异丙醇洗涤 1 次,得到的浅棕色固体用 N_2 气吹干,40 $^\circ\text{C}$ 下真空干燥 24 h,得壳聚糖维生素 C 复合物。

取 $m(\text{壳聚糖}):m(\text{维生素 C})=2:1$ 的混合物及所制备的复合物适量,采用 KBr 压片法在波数 $4\,000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围测定红外光谱,以 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率从 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 升温至 $300\text{ }^\circ\text{C}$,进行差热分析。

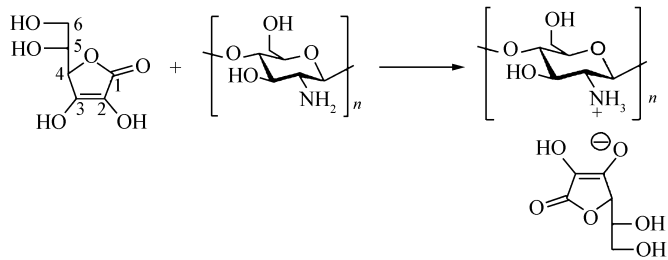
取 0.1 g 复合物,加入到 1 mL 或 10 mL 不同溶剂中,根据《中华人民共和国药典》2005 版二部凡例 IV 页有关溶解度的规定,测定溶解度。

通过测定邻苯三酚自氧化抑制率分析样品的抗氧化性^[4]。将 4.5 mL Tris-HCl 缓冲液(0.05 mol/L, pH=7.2)加入到 10 mL 试管中,然后加入 1 mL 去离子水(作为空白)或 1 mL 不同浓度的样品,涡悬。加入 0.1 mL 邻苯三酚溶液(10 mmol/L),涡悬。以空白溶液为参比,在 325 nm 波长处每隔 60 s 测定 1 次紫外吸收光谱,计时 4 min。加入样品前(k_0)后(k_1)邻苯三酚的自氧化速率常数由吸光度-时间曲线的斜率计算。样品的抗氧化率($\%$)= $[(k_0 - k_1)/k_0] \times 100\%$ 。

结果与讨论

复合物是由 2 种或 2 种以上的化合物以静电引力、氢键、盐键、疏水键等非共价键结合形成的复合体。通过复合作用可以改变其中的化合物的物理性质(如溶解性等)。由于制备方法简单,成本低廉,近

年来在药物制剂方面应用逐渐增多^[5]。在本文研究中“壳聚糖维生素 C 复合物”与“壳聚糖维生素 C 混合物”的区别在于后者中的壳聚糖没有质子化。维生素 C 在碳 2、3、5、6 位含有 4 个具有不同酸性的羟基,可发生酸碱反应。碳 3 位的羟基酸性较强($pK_a = 4.2$),而碳 2 位、5 位和 6 位羟基的 pK_a 值分别为 11.6、17 和 16^[6]。根据路易斯酸碱理论,壳聚糖的氨基和维生素 C 碳 3 位上的酸性羟基之间可发生复合反应,根据这一思路,通过摸索实验条件合成得到壳聚糖维生素 C 复合物,可能的反应机理如 Scheme 1 所示。维生素 C 含有内酯结构,与氨基还可发生开环反应。比较维生素 C 和复合物紫外吸收的结果发现,它们在最大波长 242 nm 处的吸收峰相似,表明在复合物的高分子链中存在维生素 C 的结构,证明在复合物合成过程中,维生素 C 没有发生开环反应。



Scheme 1 Reaction mechanism for forming complexes between chitosan and vitamin C

图 1 为样品的红外光谱图。图 1 谱线 *a* 3 418 cm^{-1} 处的强吸收峰为 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{OH}$ 伸缩振动重叠峰,酰胺 I ($\text{C}=\text{O}$) 的吸收峰出现在 1 644 cm^{-1} 处,2 924 cm^{-1} 处为聚合物骨架的 $\text{C}-\text{H}$ 伸缩振动峰,1 384 cm^{-1} 处为 $\text{C}-\text{CH}_3$ 的变形振动峰^[7];图 1 谱线 *b* 中 3 524 ~ 3 214 cm^{-1} 之间的 4 个峰分别归属于 C_6 、 C_3 、 C_5 、 C_2 上的 4 个羟基。形成分子内氢键的内酯羰基的伸缩振动峰出现在 1 754 cm^{-1} 处,而形成分子间氢键的内酯羰基的伸缩振动峰出现在 1 674 cm^{-1} 处^[8];图 1 谱线 *d* 和谱线 *c* 存在较大差异,表明壳聚糖和维生素 C 形成了复合物。在维生素 C 谱图中 1 754 cm^{-1} 处的峰在图 1 谱线 *d* 中移至 1 721 cm^{-1} 处,且强度降低。图 1 谱线 *d* 中位于 3 428 cm^{-1} 处的 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 重叠峰较图 1 谱线 *a* 中 3 418 cm^{-1} 处的峰减弱,表明形成复合物后壳聚糖分子链上的游离 $-\text{NH}_2$ 减少,而在 1 616 cm^{-1} 处新出现了 $-\text{NH}_3^+$ 弯曲振动吸收峰^[9]。

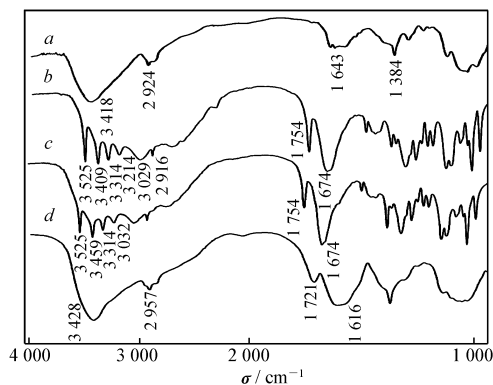


图 1 壳聚糖(*a*)、维生素 C(*b*)、壳聚糖维生素 C 混合物(*c*)和壳聚糖维生素 C 复合物(*d*)红外光谱图

Fig. 1 FT-IR spectra of (*a*) chitosan, (*b*) vitamin C, (*c*) chitosan-vitamin C mixture and (*d*) chitosan-vitamin C complex

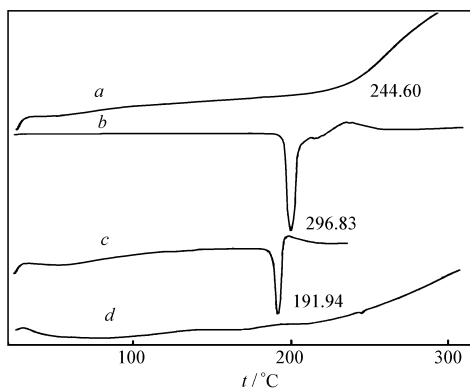


图 2 壳聚糖(*a*)、维生素 C(*b*)、壳聚糖维生素 C 混合物(*c*)和壳聚糖维生素 C 复合物(*d*)的差热分析图

Fig. 2 DSC thermographs of (*a*) chitosan, (*b*) vitamin C, (*c*) chitosan-vitamin C mixture and (*d*) chitosan-vitamin C complex

图 2 为各种样品的差热分析结果。由图 2 曲线 *a* 可知,壳聚糖降解的起始温度约为 244.6 $^{\circ}\text{C}$,维生素 C 的熔点为 196.83 $^{\circ}\text{C}$ (图 2 曲线 *b*),但壳聚糖和维生素 C 的混合物的熔点降为 191.94 $^{\circ}\text{C}$ (图 2 曲线 *c*),而复合物中(图 2 曲线 *d*)未见维生素 C 的吸热峰。DSC 测定结果表明,壳聚糖和维生素 C 通过离子间静电引力作用形成了复合物。

尽管壳聚糖的骨架结构中有亲水基团,壳聚糖通常不溶解于水和常用有机溶剂中,如二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、乙醇和吡啶等。这种不溶性是由于壳聚糖分子链之间广泛存在的分子内和分子间氢键作用。溶解性试验表明,壳聚糖维生素 C 复合物在常用有机溶剂中也不溶,但其在水中的溶解性有较明

显的改善,0.1 g 复合物在 1 mL 蒸馏水中形成透明的水凝胶,而在 10 mL 蒸馏水中形成粘性溶液,这是由于壳聚糖分子中—OH 和—NH₂间形成的分子间氢键在复合物形成过程中断裂,削弱了其分子间作用力,从而破坏了壳聚糖的晶态结构,得到水溶性的壳聚糖维生素 C 复合物。壳聚糖分子链上的活性羟基和氨基是其具有抗氧化性的原因^[10]。图 3 显示,样品对·O₂⁻的抑制率随样品浓度的增加而增加。壳聚糖维生素 C 复合物对·O₂⁻的清除作用优于壳聚糖。低质量浓度时(<0.05×10⁻³ g/mL),壳聚糖维生素 C 复合物的清除作用优于维生素 C,但在质量浓度>0.1×10⁻³ g/mL 时,复合物的清除作用小于维生素 C。

壳聚糖维生素 C 复合物有较好的水溶性及优于壳聚糖的抗氧化性,因此,作为药物载体使用时既能达到壳聚糖单独载药时的缓释和靶向作用,又可发挥抗氧化作用,避免药物因氧化而失活及产生的毒性代谢产物。

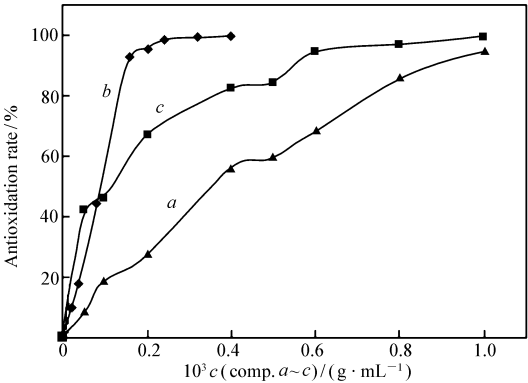


图3 壳聚糖(a)、维生素 C(b)及壳聚糖维生素 C 复合物(c)的抗氧化率

Fig. 3 Antioxidation rates of (a)chitosan, (b)vitamin C and (c)chitosan-vitamin C complex

参 考 文 献

1 Ravi Kumar M N V. *React Funct Polym*[J],2000,**46**:1
2 CHANG De-Fu(常德富),WANG Jiang-Tao(王江涛). *China Surf Detergent Cosmetics*(日用化学工业)[J],2006,**36**(4):342
3 ZHAO Li-Hua(赵丽华),QIU Juan-Ping(裘娟萍),HUANG Min(黄敏),HE Jun-Yong(何俊勇). *Feed Ind*(饲料工业)[J],2004,**2**:28
4 Yang Y,Liu W S,Han B Q. *Nutr Res*[J],2006,**26**(7):369
5 WANG Xue-Dong(王学东),LI Xiu-Yan(李秀艳),WANG Yu-Liang(王玉良). *Acta Acad Med Weifang*(潍坊医学院学报)[J],2005,**27**(3):71
6 Capuzzi G,Nostro P L,Kulkarni K,Fernandez J E. *Langmuir*[J],1996,**12**(16):3 957
7 Banerjee T,Mitra S,Singh. *Int J Pharm*[J],2002,**243**:93
8 GAO Yun-Fang(高云芳),LIU Wen-Han(刘文涵),LI Zhu-Guang(李祖光). *Chinese J Spectrosc Lab*(光谱实验室)[J],2002,**19**(3):354
9 Zheng C,Yan X,Si J G. *Carbohydr Polym*[J],2008,**73**:111
10 Tao S N,Xie W M,Xu P X. *Carbohydr Polym*[J],2004,**58**(4):379

Synthesis and Properties of Chitosan-vitamin C Complex

TIAN Xiao-Lin, TIAN Da-Feng, MO Feng-Kui*

(School of Pharmacy,Shenyang Pharmaceutical University,Shenyang 110016)

Abstract The chitosan-vitamin C complex was synthesized through the electrostatic attractions among ions. The structure of complex was characterized by FT-IR and DSC. The results of solubility testing show the complex was water soluble. The testing results of auto-oxidation rates of pyrogalllic acid indicate the complex was superior to chitosan in scavenging ·O₂⁻.

Keywords Chitosan,vitamin C,complex