

研究报告

丝素蛋白/聚 *D,L*-乳酸共聚物的研究



GAO Qin-wei

高勤卫, 李明子, 寇琴, 吴国成

(南京林业大学 化学工程学院, 江苏 南京 210037)

摘 要: 以 *D,L*-丙交酯和蚕丝丝素蛋白(SF)为原料,在氯化亚锡/对甲苯磺酸体系的催化作用下聚合得到丝素蛋白改性聚 *D,L*-乳酸的共聚物(PSFLA)。该共聚物的结构与性能采用红外光谱法、¹H NMR、热重分析、差示扫描量热法、粘度法、旋光度法和扫描电镜等方法进行研究。所得的 PSFLA 均不具有光学活性,但原料配比对共聚物的微结构与结晶性能有重要的影响。当 *D,L*-丙交酯与丝素蛋白的质量比为 6:1 时,共聚物中可能形成了络合结晶,结晶的熔点为 128 °C,且随着 *D,L*-丙交酯用量的增加,结晶的熔点略微增加。PSFLA 的热分解温度大于 220 °C。PSFLA 中的 SF 与聚乳酸(PLA)链段间可能存在着氢键相互作用, SF 与乳酸链段可自组装形成片层结构。

关键词: *D,L*-丙交酯;丝素蛋白;聚乳酸;开环共聚

中图分类号:TQ351;O633.14

文献标识码:A

文章编号:0253-2417(2011)03-0001-04

Study on Copolymers Prepared from Silk Fibroin and Poly (*D,L*-Lactide)

GAO Qin-wei, LI Ming-zi, KOU Qin, WU Guo-cheng

(College of Chemical Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The copolymers of silk fibroin and poly(*D,L*-lactide) (PSFLA) were prepared from *D,L*-lactide and silk fibroin (SF) through ring-opening polymerization catalyzed by SnCl₂/TSA. Viscometry, polarimetry, ¹H nuclear magnetic resonance, FT-IR, thermo-gravimetry, differential scanning calorimetry and scanning electron microscopy were employed to detect the obtained copolymers. Racemic copolymers were obtained at all *D,L*-lactide/SF mass ratios. When *D,L*-lactide/SF mass ratio was 6:1, complex crystal could be formed, and the melt point of copolymers increased with increasing *D,L*-lactide/SF ratios. The thermodecomposition temperature of PSFLA was over 220 °C. The obtained copolymers may form lamellas through self-assembly of lactide units and SF units.

Key words: *D,L*-lactide; silk fibroin; poly(lactic acid); ring-opening copolymerization

随着科技与社会的发展,环境问题和资源问题日益受到世界的关注。聚乳酸(PLA)力学性能优良、化学稳定性好、人体可吸收且在自然环境下可降解,是一类重要的生物降解材料,但是聚乳酸亲水性差,且缺乏细胞识别信号,导致其细胞亲和性差^[1]。纯聚乳酸制品在人体中可能引起炎症反应,因此需要改善其生物相容性。蚕丝素蛋白肽链含有多种氨基酸,与人体细胞亲和性好。采用丝素蛋白改性聚乳酸,可有效提高其生物相容性。丝素蛋白原料丰富,易于制备,也有利于降低材料成本。聚乳酸常用共聚改性的方法改善其材料性能。PLA 具有亲油性,采用含亲水性链段的材料改性 PLA,可以制备两性的嵌段共聚物,调节改性单体的种类和用量,就可以改善聚乳酸材料的亲水性、结晶性和柔韧性等^[2]。已报道聚乙二醇(PEG)^[3-5]、聚乙醇酸(PGA)^[6]、马来酸酐^[7]、聚 ϵ -己内酯(PCL)^[8]、氨基酸等^[9]体系都可以改性聚乳酸。近年来,本课题组一直进行丝素蛋白改性聚乳酸的研究^[10-16],其中寇琴^[10]、周壮

收稿日期:2010-11-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50573032);江苏省留学基金资助(无编号)

作者简介:高勤卫(1968-),男,安徽凤台人,教授,博士,研究方向为生物高分子材料;E-mail:Qinway_gao@yahoo.com.cn。

丽^[11]、吴国成^[12]、赵小玉^[12]和查震源^[13]等在丝素蛋白与聚乳酸的共混和共聚改性体系方面进行了有益的探索。除此之外,尚未见其他的丝素蛋白改性聚乳酸的研究报道。本研究以内消旋 *D,L*-丙交酯与丝素蛋白(SF)为原料,在 SnCl_2 /对甲苯磺酸的催化作用下进行聚合,得到丝素蛋白/聚 *D,L*-乳酸共聚物(PSFLA),研究产物的结构与性能,并探讨了蚕丝蛋白肽链的用量对 PSFLA 结构与性能的影响。

1 实验部分

1.1 试剂

蚕丝蛋白丝肽粉为湖州珍露生物制品有限公司的产品,未处理,直接使用。*D,L*-乳酸含水量为 10%,无光学活性;氯化亚锡($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);对甲苯磺酸(TSA);三氯甲烷;无水乙醚、乙酸乙酯及其他试剂均为 AR 级。

1.2 丝素蛋白/聚 *D,L*-乳酸共聚物(PSFLA)的制备

以含水 10% 的 *D,L*-乳酸为原料,制备 *D,L*-丙交酯^[17]。在反应装置中先后加入一定量的丝素蛋白(SF)、*D,L*-丙交酯、氯化亚锡/对甲苯磺酸体系等。氯化亚锡与对甲苯磺酸等物质的量用量,且氯化亚锡用量为 *D,L*-丙交酯质量的 0.5%。开动搅拌器,抽真空至反应体系的压力为 -0.1 MPa,维持油浴温度为 170 °C 进行共聚。聚合反应 10 h 后,得到丝素蛋白/聚乳酸共聚物(PSFLA)。

将 PSFLA 配成 5% 的三氯甲烷溶液,过滤掉杂质后,用无水乙醚沉淀。将沉淀物过滤收集起来,放入真空烘箱中,在 -0.1 MPa、 40 °C 的条件下干燥 12 h 后,得到 PSFLA 样品。样品保存在真空干燥器中备用。

1.3 聚合物的表征

聚合物红外光谱采用美国 Nicolet FT-IR-360 型红外光谱仪测定,样品为 KBr 压片。样品采用 BRUKER 公司 DRX-500 核磁共振仪、氘代氯仿为溶剂测定 ^1H NMR 谱(500 MHz),以氘代氯仿的化学位移 δ 7.26 作参照标准。以四氢呋喃作为溶剂,使用乌氏粘度计进行产物的特性粘数分析,测试温度 25 °C。样品的 DSC 曲线采用 NETZSCH DSC-200F3 差式扫描量热仪测定,氮气保护,测量温度范围为 $30\sim 250$ °C,升温速率为 10 K/min。热失重曲线采用 NETZSCH STA 409 PC/PG 热重分析仪进行测试,测试范围 $40\sim 800$ K,升温速率 20.0 K/min, N_2 保护。聚合物形态采用 FEI Quanta 200(荷兰 FEI 公司)扫描电子显微镜进行测试。

2 结果与讨论

2.1 丝素蛋白/聚 *D,L*-乳酸共聚物(PSFLA)的结构表征

红外光谱可以用来表征聚合物的结构,图 1 为 PSFLA 的红外吸收光谱(*D,L*-丙交酯与 SF 质量比为 6:1)。图上 1759 cm^{-1} 处的峰为 PLA 的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰,而 1093 、 1130 和 1194 cm^{-1} 处的峰则是 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 伸缩振动峰。这说明产物中存在着酯基结构。而 1640 、 1520 、 $1250\sim 1260$ cm^{-1} 处的峰分别对应着酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III 的吸收峰。这表明产物中含有酰胺结构。因此,PSFLA 同时具有 PLA 的酯基和丝素蛋白的酰胺基,即该聚合物是 PLA 与丝素蛋白共聚物。

图 2 是不同投料比的 PSFLA 在羰基振动区的红外吸光谱。图中 1750 cm^{-1} 处的吸收峰是聚乳酸的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰,而 $1620\sim 1660$ cm^{-1} 处吸收峰是丝素的酰胺 I 伸缩振动峰。随着原料中 SF 的增加,酰胺 I 峰的强度逐渐增大,这说明 PSFLA 中 SF 的含量在增加。同时,由于 PLA 链段和 SF 链段间存在着氢键作用,导致羰基峰和酰胺 I 峰都略微移向低波数。以 *D,L*-丙交酯与丝素质量比为 6:1 制备 PSFLA,测试其核磁共振氢谱。图中化学位移 δ 1.6 处的双峰为 PLA 的甲基峰^[9-10],而 δ 1.5 处的双峰则是丙氨酸残基(Ala)中甲基吸收峰,且产生较小位移。PLA 甲基峰与丙氨酸残基(Ala)的甲基峰叠加成一个宽峰。由于 SF 中 Ala 含量高,可以检测到在 δ 3.75 处的丙氨酸残基的次甲基振动的四重峰^[18]。而丝氨酸残基相对含量较少,其质子吸收峰则难以分辨。 δ 4.35 处的多重峰是 PLA 端基上的次甲基振动峰。由于该峰与 SF 质子峰相互叠加,已难以分辨峰数。PLA 链段中的次甲基振动峰(δ 5.2)略微移

向低场,并与在 δ 5.0~5.4处的SF质子峰相互叠加。而 δ 7.07和 δ 7.48处的峰则是酪氨酸(Try)上的苯环质子峰。核磁共振的结果说明,共聚物分子链中含有PLA链段和SF链段^[18]。丝蛋白肽链的 $-\text{NH}_3$ 和 $-\text{COOH}$ 端基都具有较大活性,可以与聚乳酸缩聚生成嵌段聚合物。另外,丝氨酸 $-\text{OH}$ 基团也可参与反应,形成接枝聚合物。¹H NMR的结果显示,PSFLA形成嵌段聚合物可能性更大。

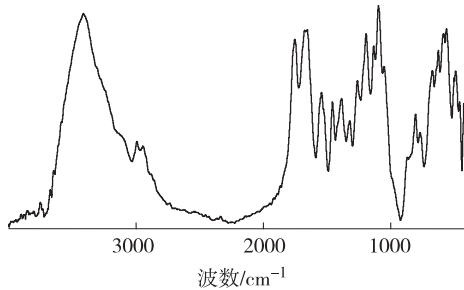
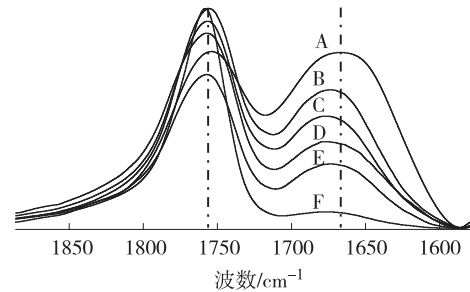


图1 PSFLA的红外光谱图
Fig. 1 FT-IR spectrum of PSFLA



A. 1:1; B. 2:1; C. 4:1; D. 6:1; E. 8:1; F. 10:1

图2 不同质量比的PSFLA的红外光谱图

Fig. 2 FT-IR spectra of PSFLA with different mass ratio of D,L-lactide to silk fibroin

2.2 SF及PSFLA的特性粘数与旋光度

D,L-丙交酯/SF配比对PSFLA的特性粘数值和比旋光度值有影响。随着*D,L*-丙交酯/SF配比的增加,PSFLA样品的特性粘数增大,当配比为8:1时样品的特性粘数最大($[\eta]$ 为0.35)。继续增大*D,L*-丙交酯/SF配比,PSFLA样品的特性粘数略微减少。由于*D,L*-丙交酯含有等量的*D*-和*L*-型单元,PSFLA样品不具有光学活性,其比旋光性为零。

2.3 PSFLA的热性能分析

采用热重法(TG)和差式扫描量热法(DSC)分析PSFLA的热性能。当加热到100℃时,丝素蛋白即开始脱水。当温度大于175℃时,丝素蛋白失重加速,并在305℃时分解^[19-20]。PSFLA的热重曲线如图3所示,PSFLA在120℃开始逐步失重,这可能是SF脱水引起的。在220℃左右,PSFLA开始大量失重,这可能是PLA分解所致。

PSFLA样品的DSC曲线显示,不同*D,L*-丙交酯/SF投料比对PSFLA样品的热性能具有显著的影响。当*D,L*-丙交酯/SF的质量比 $\leq 4:1$ 时,PSFLA样品的玻璃化温度为58℃,但没有熔点,即PSFLA为非晶态聚合物。而当*D,L*-丙交酯/SF为6:1时,PSFLA样品DSC曲线上的出现熔点为128℃的结晶熔融峰。当*D,L*-丙交酯/SF为8:1时,PSFLA样品的玻璃化温度为59℃,结晶熔融峰130℃。由于PLA在220℃左右开始分解,导致PSFLA样品在此温度下迅速降解。*D,L*-丙交酯开环聚合只能得到*D*-和*L*-交替的聚乳酸,但由于由*D,L*-乳酸制备*D,L*-丙交酯时,产物中可能含有微量的*rac*-丙交酯并参与共聚反应,且在熔融聚合中还存在酯交换反应、构型转化等副反应,导致共聚物中形成部分*D*-链段和*L*-链段。随着*D,L*-丙交酯用量增加,PSFLA中的*D*-和*L*-链段的含量增加,并形成络合结晶^[21]。因此,共聚物具有结晶的熔点,但是不具有光学活性。这个结论也与上文中比旋光度的结果一致。

2.4 PSFLA的形态分析

采用溶液沉淀法制备的PSFLA样品并用扫描电镜分析共聚物的形态。当*D,L*-丙交酯/SF小于4:1时,共聚物的形态为致密的块状结构,但当*D,L*-丙交酯/SF大于或等于4:1时,样品为片层结构。图4为*D,L*-丙交酯/SF等于6:1时,PSFLA的扫描电镜照片。这可能是随着*D,L*-丙交酯用量的增加,

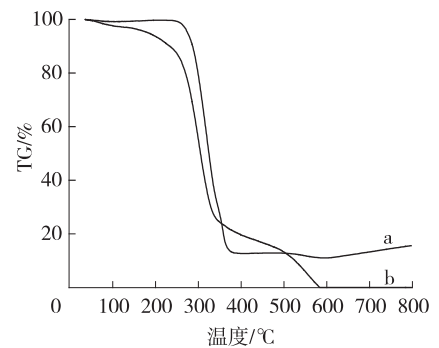


图3 SF(a)和PSFLA(b)的TG曲线
Fig. 3 Thermogravimetric curve of SF (a) and PSFLA (b)

共聚物中的聚乳酸链段增加,丝素链段和聚乳酸链段发生自组装,形成薄片结构,并进一步聚集形成疏松的片层结构^[10]。

3 结论

采用 *D,L*-丙交酯与丝素蛋白(SF)肽链为原料,在 SnCl_2 /对甲苯磺酸体系的催化作用下,熔融聚合可以制备非光学活性的 *D,L*-丙交酯/SF 共聚物(PSFLA),PSFLA 的热分解温度大于 220 °C。共聚单体的质量比对 PSFLA 有着重要的影响,PSFLA 为 SF 与 PLA 嵌段共聚物,且可能形成 *D*-和 *L*-链段,当 *D,L*-丙交酯/丝素蛋白质量比为 6:1 或更大时,共聚物可能形成络合结晶,结晶熔点 128 °C 或更高。在 PSFLA 中,SF 与 PLA 链段间可能存在着氢键作用,SF 链段与乳酸链段可以自组装形成片层结构。

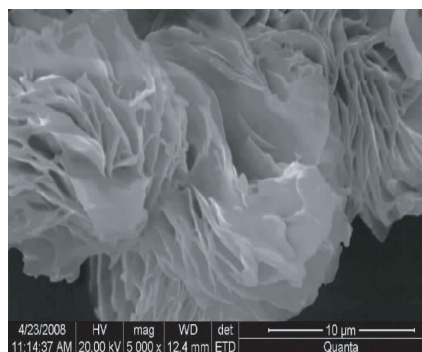


图4 PSFLA 的 SEM 图
Fig.4 SEM image of PSFLA

参考文献:

- [1] SAWALHA H, SCHROEN K, BOOM R. Mechanical properties and porosity of polylactide for biomedical applications[J]. J Appl Polym Sci, 2008, 107(1):82-93.
- [2] HARSHE Y M, STORTI G, MORBIDELLI M, et al. Modeling polycondensation of lactic acid[J]. Macromol Sympos, 2007, 259:116-123.
- [3] 李晓然, 袁晓燕. 聚乙二醇-聚乳酸共聚物药物载体[J]. 化学进展, 2007, 19(6):973-982.
- [4] OUCHI T. Design of lactide copolymers as biomaterials[J]. Polym Chem, 2004, 42(3):453.
- [5] 任杰, 王佐, 滕新荣, 等. PLA-PEG/ Fe_3O_4 磁性复合微球的制备与性能研究[J]. 同济大学学报:自然科学版, 2008, 36(3):370-373.
- [6] 王艳华, 李曦光. PLA、PGA 及其共聚物支架在组织工程中的应用[J]. 锦州医学院学报, 2004, 25(3):60-62.
- [7] 程艳玲, 龚平. 聚乳酸-马来酸酐共聚物的制备与性能研究[J]. 塑料, 2007, 2(36):46-49.
- [8] COHN D, HOTOVELY S A. Designing biodegradable multiblock PCL/PLA thermoplastic elastomers[J]. Biomaterials, 2005, 26(15):2297.
- [9] ARIMURA H. The formation of biodegradable polymeric micelles from newly synthesized poly(aspartic acid)-block-poly(lactide) AB-type diblock copolymers[J]. Mactomol Rapid Commun, 2004, 25:743-747.
- [10] 寇琴. 丝蛋白肽链/聚乳酸共聚改性的研究[D]. 南京:南京林业大学硕士学位论文, 2008.
- [11] 周壮丽. 熔融/固相聚合制备聚乳酸与丝素蛋白共聚物[D]. 南京:南京林业大学硕士学位论文, 2009.
- [12] 吴国成. *L*-乳酸齐聚物与丝素蛋白共聚物的制备和研究[D]. 南京:南京林业大学硕士学位论文, 2009.
- [13] 赵小玉. 聚 *L*-乳酸/丝素蛋白混体系研究[D]. 南京:南京林业大学硕士学位论文, 2010.
- [14] 查震源. 丝素蛋白共聚改性聚 *L*-乳酸的研究[D]. 南京:南京林业大学硕士学位论文, 2010.
- [15] 高勤卫, 李明子, 周壮丽, 等. 一种蚕丝蛋白与聚 *L*-乳酸的共聚物及其固相聚合制备方法和应用: 中国, CN101445608[P]. 2009.
- [16] 高勤卫, 李明子, 查震源, 等. 一种蚕丝蛋白和聚 *L*-乳酸的共聚物及其开环聚合制备方法和应用: 中国, CN101445608[P]. 2010.
- [17] KRICHELDORF H R, SUMBEL M. Polylactones-18 polymerization of *L,L*-lactide with Sn(II) and Sn(IV) halogenides [J]. Eur Polym, 1989, 25:585-591.
- [18] ASAKURA T. NMR of silk fibroin. 4 temperature and urea induced helix-coil transitions of the(Ala)*n*-sequence in silk fibroin protein monitored by ^{13}C NMR spectroscopy[J]. Macromolecules, 1985, 18:2614-2619.
- [19] MAGOSHI J. Physical properties and structure of Silk V [J]. J Polym Sci: Polym Phys, 1997, 15:1675-1683.
- [20] ALTMAN G H, DIAZ F, JAKUBA C, et al. Silk-based biomaterials[J]. Biomaterials, 2003, 24(3):401-406.
- [21] MAJERSKA K, DUDA A. Stereocontrolled polymerization of racemic lactide with chiral Initiator: Combining stereoselection and chiral ligand-exchange mechanism[J]. J Am Chem Soc, 2004, 126(4):1026-1027.