

УДК 541.64 : 547.458.8

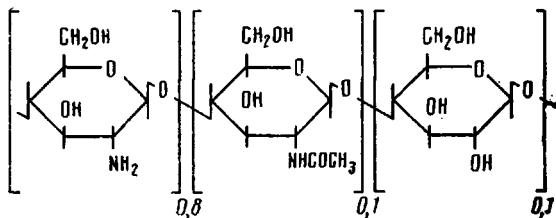
© 1991 г. И. Н. Горбачева, Е. Е. Скорикова, Г. А. Вихорева,
Л. С. Гальбрайх, К. К. Бабиевский

СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА СУЛЬФАТА ХИТОЗАНА

Синтезированы образцы сульфата хитозана с преимущественным образованием О-замещенных продуктов. Установлено, что сульфат хитозана в отличие от кристаллического полужесткоцепного хитозана имеет аморфную структуру и пониженную жесткость макромолекулярной цепи. Изучены полиэлектролитные свойства сульфата хитозана в водно-солевых растворах.

В последнее время заметно возрос интерес к полиамфолитам, растворимым в воде в широком интервале pH [1, 2]. К их числу относится сульфат хитозана (СХ), в макромолекулах которого содержатся сульфатные, сульфамидные и аминогруппы. СХ обладает гепариноподобными свойствами (способен замедлять процесс свертывания крови [3], активировать липопротеидлипазы [4]) и проявляют другие виды биологической активности. Уровень специфической биологической активности полимеров, как и их токсичность, определяется комплексом химических и физико-химических характеристик веществ, в том числе регулярностью строения, кислотно-основными и полиэлектролитными свойствами их растворов. В работе [5] изучены некоторые физико-химические свойства избирательно 6-O-замещенного СХ. В настоящей работе исследован характер распределения функциональных групп в макромолекулах СХ и некоторые свойства его разбавленных водных растворов.

СХ получали из хитозана (ХТЗ) криля с $\bar{M}_n=3,2 \cdot 10^5$, рассчитанной по уравнению $[\eta]=1,38 \cdot 10^{-4} \cdot M^{0,85}$ в 0,33 м. $\text{CH}_3\text{COOH}+0,2$ м. CH_3COONa [6], и имеющего следующее строение:



Степень кристалличности ХТЗ составляла 73%. Для сульфатирования использовали комплекс хлорсульфоновая кислота - ДМФА, которым обрабатывали ХТЗ в течение 2–2,5 ч при 45° по методике [7] (мольное соотношение хлорсульфоновая кислота : ХТЗ = 4 : 1). Реакционную смесь осаждали в этанол и нейтрализовали раствором 2 н. NaOH , полученный продукт очищали на ультрафильтрационной системе фирмы «Amicon» и лиофилизовали. Характеристическая вязкость растворов СХ в 0,5 м. NaCl при $25,0 \pm 0,1^\circ$ равна $0,28 \pm 0,02$ дL/g. ММ сульфата хитозана M_n , рассчитанная по уравнению $[\eta]=4,97 \cdot 10^{-5} \cdot M^{0,77}$ [8], составляла $(80 \pm 10) \cdot 10^3$. Функциональный состав СХ определяли по данным элементного анализа, потенциометрического титрования, дезаминирования по Ван-Слайку [9] и методом спектроскопии ЯМР ^{13}C . Степень замещения (СЗ) синтезированных образцов СХ по сульфатным группам составляла $1,40 \pm 0,05$.

Потенциометрические исследования проводили на автоматическом титраторе ТТА-80 фирмы «Radiometer» при комнатной температуре. Ионную силу растворов создавали при помощи нейтральной соли NaCl . Спектры ЯМР ^{13}C растворов СХ в D_2O и хитозана в DCI с концентрацией 14–15% записывали на спектрометре WR-

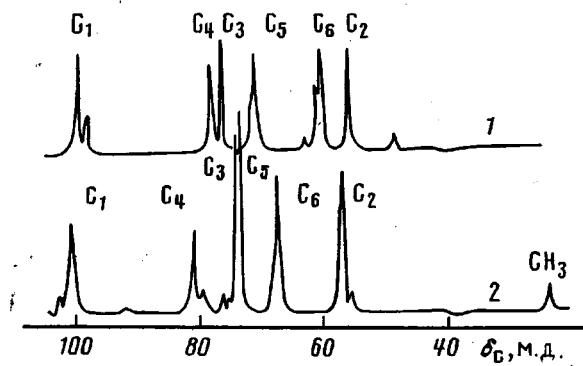


Рис. 1. Спектры ЯМР ^{13}C 15%-ных растворов хитозана в DCl (рD=1,4) (1) и сульфата хитозана в D_2O (рD=8,4) (2)

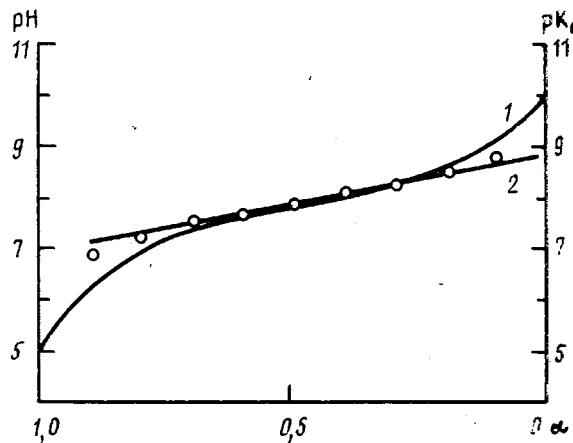


Рис. 2. Кривая потенциометрического титрования (1) и зависимость pK_a (2) от степени нейтрализации аминогрупп сульфата хитозана α . Концентрация аминогрупп 0,005 осново- моль/л при $I=0$

80DS фирмы «Bruker» с рабочей частотой 20,115 МГц по ядрам ^{13}C при $22 \pm 1^\circ$. Съемку фоторентгенограмм проводили на установке УРС-55 при комнатной температуре на излучении $\text{Cu } K_\alpha$ ($\lambda=1,54 \text{ \AA}$) с никелевым фильтром, используя плоско-кассетную камеру.

Для характеристики особенностей строения синтезированных образцов СХ использовали спектроскопию ЯМР ^{13}C высокого разрешения. Из сравнения ЯМР-спектров ХТЗ и СХ (рис. 1) видно, что введение сульфатных групп в макромолекулы ХТЗ приводит к сильному сдвигу (до 6 м. д.) в низкое поле сигнала атома углерода гидроксиметильной группы. При этом отсутствие расщепления сигнала от C-6 свидетельствует о практически исчерпывающем сульфатировании первичных гидроксильных групп. Сдвиг сигнала атомов углерода C-3 и C-2 пиранозного цикла до 2 м.д. и наличие дуплетов свидетельствуют о частичном сульфатировании гидроксильных групп у C-3 и аминогрупп у C-2, а хим. сдвиги сигналов C-1 и C-4 на 2–3 м. д. указывают на изменение конформации элементарных звеньев в макромолекулах СХ по сравнению с ХТЗ. Сравнение содержания общего и аминного азота в СХ свидетельствует о том, что до 30% аминогрупп в его макромолекулах находится в сульфатированной форме. Таким образом, в результате сульфатирования ХТЗ смесью хлорсульфоновая кислота+ДМФА реакция идет неизбирательно, но с преимущественным образованием O-замещенных продуктов. Химическое строение синтезированных образцов СХ в общем виде можно представить следую-

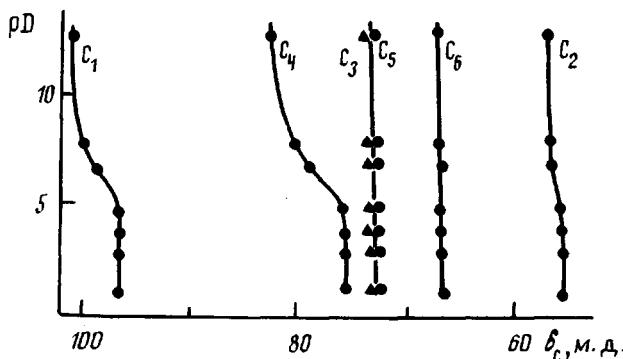
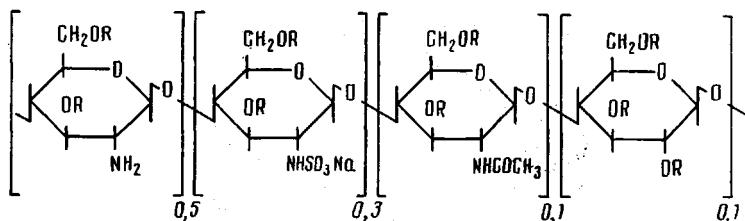


Рис. 3. Кривые ЯМР ^{13}C титрования сульфата хитозана в D_2O

щей формулой ($\text{R}=\text{SO}_3\text{Na}; \text{H}$):



Наличие в макромолекулах СХ сульфатных и аминогрупп, способных в водных растворах приобретать противоположные заряды, должно сказываться на поведении его растворов. Количество отрицательно заряженных сульфатных групп ($-\text{OSO}_3^-$) в цепях СХ заметно превышает количество аминогрупп. Это обусловливает растворимость СХ в воде во всем интервале рН. Для исследования кислотно-основных свойств аминогрупп СХ применяли метод потенциометрического титрования. Рассчитанное из кривой потенциометрического титрования (рис. 2) значение характеристической кислотной константы диссоциации аминогрупп СХ $pK_{\text{хар}}$ по уравнению Хассельбаха — Гендерсона для полиоснований ($pK_a = p\text{H} + \lg \frac{\alpha}{1-\alpha}$, где α — степень нейтрализации) [10] оказалось равным 8,8. Та-

ким образом, аминогруппы, включенные в цепи СХ, обладают значительно более высокой основностью по сравнению с аминогруппами ХТЗ ($pK_{\text{хар}}=6,3$), D -глюкозамина ($pK_{\text{хар}}=7,8$) [11] и О-6-сульфата хитозана, описанного в работе [5]. Это обусловлено влиянием на аминогруппы СХ соседних, близко расположенных, отрицательно заряженных сульфатных групп.

Знак заряда цепей СХ в водном растворе определяют нацело ионизованные во всем интервале рН сульфатные группы, поэтому полимеры СХ всегда несут отрицательный заряд. Ранее было показано [11], что в щелочных средах СХ представляет собой полиион, а в нейтральных и кислых средах его макромолекулы содержат как анионные, так и цвиттерионные группы. Изменение рН среды со щелочной на кислую приводит также к изменению конформации макроцепей СХ. Об этом свидетельствуют представленные на рис. 3 $p\text{D}$ -зависимости хим. сдвигов сигналов С-1 и С-4 в спектре ЯМР ^{13}C СХ, на которых появляются перегибы, соответствующие началу и окончанию протонирования аминогрупп СХ. Приведенная на рис. 4 зависимость удельной вязкости водного раствора СХ от рН также свидетельствует о конформационных изменениях макромолекул СХ. Понижение удельной вязкости в области $\text{pH}=4,5-6,5$ обусловлено частичной взаимной компенсацией противоположно заряженных сульфатных и аминогрупп СХ и компактизацией макроцепей.

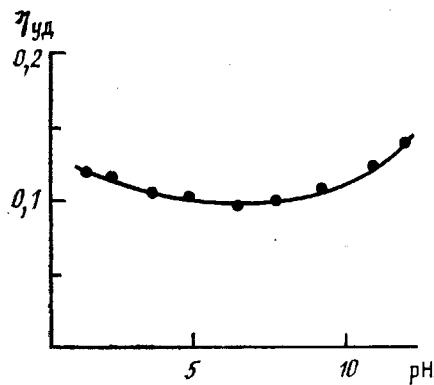


Рис. 4. Зависимость η_{ud} 0,1%-ного раствора сульфата хитозана от pH среды. Концентрация NaCl в растворе 0,1 моль/л

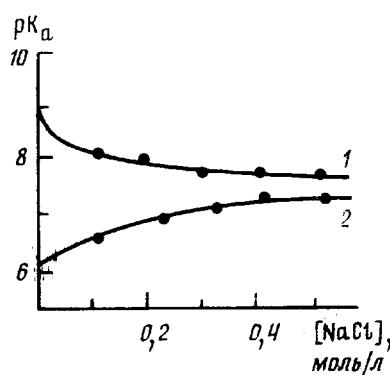


Рис. 5. Влияние ионной силы на $pK_{\text{хар}}$ аминогрупп сульфата хитозана (1) и хитозана (2)

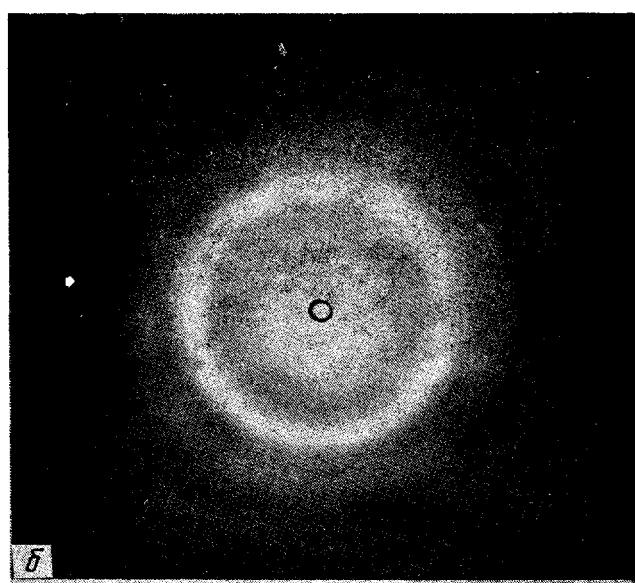
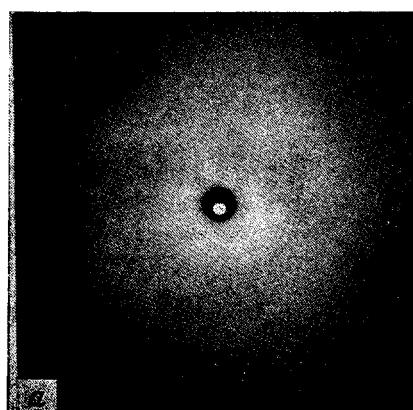


Рис. 6. Рентгенограммы сульфата хитозана (а) и хитозана (б)

Как и для других ионогенных полимеров, в бессолевых растворах СХ наблюдался эффект полиэлектролитного набухания. Введение в разбавленный раствор СХ уже небольшого количества NaCl (0,01 моль/л) полностью подавляет полиэлектролитное набухание его макромолекул. Присутствие в растворе полимера NaCl также существенно влияет и на основность аминогрупп СХ. Из рис. 5 (кривая 1) видно, что возрастание ионной силы раствора вследствие экранирования низкомолекулярными противоионами сульфатных групп СХ приводит к понижению $pK_{\text{зап}}$ аминогрупп, значение которой от 8,8 в бессолевом растворе уменьшается до 7,0 при концентрации NaCl 1 моль/л, и приближается к значению $pK_{\text{зап}}$ аминогрупп ХТЗ (рис. 5, кривая 2).

Критерием жесткости макромолекул полисахаридов — полиэлектролитов служит параметр B , который рассчитывают из эмпирического уравнения $S = B[\eta]_{i=0,1}^{1/3}$, где S — тангенс угла наклона зависимости $[\eta]$ от $1/\bar{V}$ (i — ионная сила раствора) [12]. Константа B практически не зависит от ММ и плотности заряда на полимере и характеризует жесткость макромолекулярной цепи полиэлектролита, которая тем выше, чем меньше значение B . Рассчитанное значение B для СХ оказалось достаточно высоким (0,17), в то время как для макромолекул ХТЗ значение B лежит в интервале 0,06–0,10 [13]. Таким образом, введение в макромолекулы ХТЗ большого числа сульфатных групп приводит к заметному понижению жесткости цепей СХ по сравнению с макромолекулами ХТЗ, очевидно, вследствие разрушения системы внутримолекулярных водородных связей в процессе сульфатирования, а также увеличения набора конформаций цепей СХ вследствие электростатических взаимодействий.

В процессе сульфатирования ХТЗ происходит разрушение его кристаллической структуры. Об этом свидетельствует рентгенограмма СХ, представленная на рис. 6, а, на которой отсутствуют рефлексы, характерные для кристаллического ХТЗ (рис. 6, б). Слабые рефлексы на рентгенограмме СХ свидетельствуют о том, что в результате сульфатирования образуется аморфный полимер со слабо упорядоченной структурой.

Таким образом, изученный в работе СХ является не избирательно, но преимущественно О-сульфированным производным с аморфной структурой и повышенной гибкостью макромолекулярной цепи. Растворы СХ проявляют отчетливо выраженные полиэлектролитные свойства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Varoque R., Tran Q., Pefferkorn E. // J. Amer. Chem. Soc. 1979. V. 12. № 5. P. 831.
- Zheng Y. L., Knoesel R., Galin J. C. // Polymer. 1987. V. 28. December. P. 2297.
- Whistler R. J., Kosik M. // Arch. Biochem. and Biophys. 1971. V. 142. P. 106.
- Hirano S., Kinugawa J., Nishioka A. // Proc. of III Intern. Conf. on Chitin and Chitosan. Chitin in Nature and Technology/Ed. by Muzzarelli R. A. A. Ancona (Itali). 1985. P. 461.
- Terboevich M., Carraro C., Cosani A. // Macromolek. Chem. 1989. V. 190. S. 2847.
- Гамзазаде А. И., Шимак И. М., Складяр А. М., Штыкова Э. В., Павлова С.-С. А., Рогожин С. В. // Acta Polymerica. 1985. V. 36. P. 420.
- Батура Л. И., Вихорева Г. А., Норейка Р. М., Гальбрайх Л. С., Роговин З. А. // Cellulose Chem. Technol. 1981. V. 15. P. 487.
- Норейка Р. М., Колодзейскис В. С., Дуденкас Г. Э. // Тез. докл. «Актуальные вопросы разработки, изучения и производства лекарственных средств». Каунас, 1983. С. 113.
- Климова В. А. Основные микрометоды анализа органических соединений. М., 1975. 223 с.
- Shepherd E. J., Kitchener J. A. // J. Chem. Soc. 1956. № 7. P. 2448.
- Скорикова Е. Е., Вихорева Г. А., Калюжная Р. И., Зезин А. Б., Гальбрайх Л. С., Кабанов В. А. // Высокомолек. соед. А. 1988. Т. 30. № 1. С. 44.
- Smidsrood O., Haug A. // Biopolymers. 1971. V. 10. P. 1213.
- Terboevich M., Consani A., Scandola M., Forsana A. // Proc. of III Intern. Conf. on Chitin and Chitosan. Chitin in Nature and Technology/Ed. by Muzzarelli R. A. A. Ancona (Itali). 1985. P. 349.

**I. N. Gorbacheva, Ye. Ye. Skorikova, G. A. Vikhoreva,
L. S. Gal'braikh, K. K. Babievskii**

STRUCTURE AND PROPERTIES OF CHITOZANE SULFATE

S u m m a r y

Chitozane sulfate samples have been synthesized with predominant formation of O-substituted products. Unlike crystalline semirigid chitozane chitozane sulfate has the amorphous structure and the lower rigidity of the macromolecular chain. Polyelectrolyte properties of chitozane sulfate in the water-salt solutions have been studied.