

酶催化脂肪族聚酯的合成

邓铭明, 于九皋*

(天津大学理学院化学系, 天津 300072)

摘要:脂肪族聚酯是一种可生物降解的新型高聚物, 可通过化学催化、发酵和酶催化来合成。酶催化合成聚酯是一种新型的环境友好绿色化学技术, 可以在温和条件下高效的合成聚酯, 有着传统聚合方法难以比拟的优势。尤其是特种酶的应用, 为传统方法难以合成的聚酯, 开辟了一条新的合成途径。本文综述了脂肪酶催化缩聚、酯交换、内酯开环聚合等聚酯合成方法, 并讨论了反应参数(如溶剂、温度、酶和单体的浓度)对反应的影响。

关键词:酶催化; 脂肪族聚酯; 合成

概述

生物可降解脂肪族聚酯是一种柔软且具有高强度的可降解高分子材料, 其性能与传统的高分子材料低密度聚乙烯(LDPE)接近^[1], 但是具有良好的生物相容性和生物降解性。脂肪族聚酯主要包括以石油为原料合成的聚己内酯(PCL)、聚丁二酸丁二醇酯(PBS)及其共聚体, 还有以可再生资源为原料生产的聚乳酸、由微生物生产的聚羟基脂肪酸酯(PHA)等。

由缩聚法合成脂肪族聚酯可以追溯到 20 世纪 30 年代, 但由于合成的聚酯分子量低, 产品柔软易碎, 限制了其发展。直到上世纪 90 年代, 才成功合成了具有高分子量的脂肪族聚酯, 使其性能得到了改善, 并在环境和医药工程中得到应用。

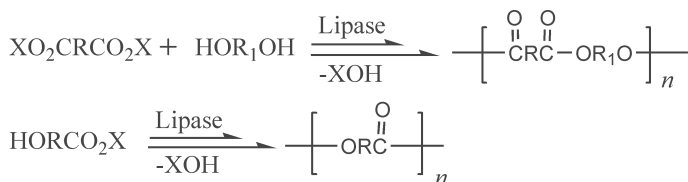
脂肪族聚酯的合成, 一般采用生物发酵或是化学合成的方法^[2]。近来, 脂肪酶催化合成聚酯的方法, 为生物降解聚合物的合成开辟了一条全新的道路。相比于传统的合成方法, 酶催化聚酯合成具有许多突出的优点: 具有高效的对映选择性和区域选择性; 可以在多种不同的介质中进行反应; 酶本身来源于可循环资源, 无毒无害; 酶催化聚酯合成反应不需要除水和隔绝空气; 可以使反应在温和的条件下进行; 可以催化化学方法难以完成的大环内酯开环聚合。

本文综述了通过不同途径脂肪酶催化合成聚酯的方法, 列举了反应所需酶的类型, 并对影响反应速率和产物聚酯分子量的各种因素做了简要介绍。

1 酶催化合成脂肪族聚酯

脂肪酶是一种可以催化脂肪酸酯在水相中水解的酶。但是一些脂肪酶可以在有机介质中稳定存在, 催化酯化作用和酯交换反应。通过使用脂肪酶的催化作用, 聚酯的合成可以通过缩聚, 酯交换, 开环反应来完成。典型的三类脂肪酶催化聚酯聚合反应如图 1 所示^[3]:

酶催化缩聚反应和酯交换反应



X=H, 烷基, 卤代烷基, 乙烯基等
酶催化开环聚合反应

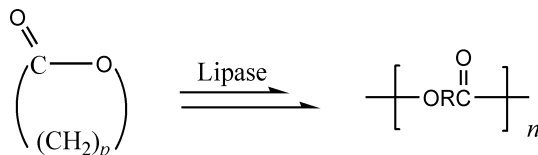


图 1 三类不同方法的酶催化聚酯合成

Figure 1 Different route leading to synthesis of polyester

1.1 酶催化缩聚及酯交换反应

聚酯不仅可以通过二酸和二醇(AA, BB 型单体)缩聚、羧基酸(AB 型单体)自身缩聚来合成,还可以用活性二酯和二醇的转酯基反应来合成。在反应过程中,合成的聚酯会发生水解反应而降解,与聚合反应达到平衡,限制了聚合酶分子量的增长^[4]。

1.1.1 酶催化的缩聚反应 脂肪酶催化下,由缩聚反应合成聚酯,一般得到分子量较低的低聚物。例如固定化的脂肪酶 MM(见文末脂肪酶缩写对照表)催化脂肪酸和 1,4-丁二醇在二异丙基醚中反应,产物的聚合度仅在 20 左右^[5]。

为了得到高分子量的聚酯,需要将反应中生成的水除去,使反应平衡向高转化率的方向移动。使用分子筛或是在真空条件下进行反应都是有效方法^[6,7]。癸二酸和 1,4-丁二醇在联苯基醚中使用真空泵减压,合成平均分子量在 40000 以上的聚酯^[5]。

Linko 等系统研究了二酸和二醇单体链长变化对缩聚反应的影响^[7]。实验表明,随着底物浓度的增大,聚合物分子量会随之增加。长链的二酸(癸二酸、脂肪酸)和二醇(1,8-辛二醇、1,6-己二醇)比短链的二酸(1,4-丁二酸)和二醇(1,4-丁二醇)具有更高的反应活性^[8]。脂肪酶 MM 催化脂肪酸和己二醇在联苯基醚中减压反应,可以得到平均分子量 77400 的聚合物。

此外,还可以使用酸酐作为酰化试剂,与二醇聚合成聚酯。与二酸聚合相比,酸酐参与的缩聚反应减少了水的生成,更有利于反应平衡向生成聚合物的方向移动^[9]。丁二酸酐和 1,8-辛二醇在脂肪酶 PF 催化下,室温即可合成平均分子量 10000 以上的聚酯^[10]。

1.1.2 酶催化转酯基反应 烷基酯在和醇发生的酶催化转酯基反应中表现出低反应活性,而且由于反应的可逆性,反应进行缓慢。因此通过二烷基酯和二醇的酶催化得到高分子量聚酯是困难的。一般仅能得到分子量几千的低聚物。在真空条件下除去生成的醇,使反应平衡移动,可以增加产物的分子量^[5]。

使用活性酯作为反应底物,可以有效地增加反应速率和产物的分子量。现在广泛使用二乙烯基二酸酯作为转酯基反应的底物。二乙烯基二酸酯是具有极高反应活性的单体,这是由于离去基团乙烯基醇可以不可逆的转化为乙醛,从而使聚酯的合成反应可以在温和的条件下进行^[11]。二乙烯基己二酸酯和 1,4-丁二醇在脂肪酶 PC 催化下聚合,产物平均分子量在 21000 以上^[5]。

脂肪酶 CA、MM、PC 和 PF 都对二乙烯基己二酸酯(二乙烯基癸二酸酯)和不同链长的 α, ω -二醇聚合表现出很高的反应活性^[5]。聚酯的合成可以在不同的有机溶剂中进行,二异丙基醚具有最好的效果。对不同来源脂肪酶对二乙烯基酯和二醇反应合成聚酯的研究^[12]表明,脂肪酶 CA 是最为有效的生物催化剂。

另有研究表明,在脂肪酶催化下,聚酯链之间也可以发生酯交换反应。聚十五酸内酯(平均分子量 40000)和聚己酸内酯(平均分子量 44000)在 70~75℃ 下 Novozyme-435 催化反应 1h, ¹³C NMR 就表明两种均聚物共聚成为了无规共聚物,平均分子量也增加为 64700^[4]。

1.2 酶催化内酯开环聚合

与缩聚反应不同,内酯的开环聚合进行过程中并不会产生离去基团。

脂肪酶的催化活性点(丝氨酸残基),在内酯开环反应中,与内酯形成复合物酰基酶中间体——活性酶单体(EAM)。活性酶单体的形成是整个聚合反应的速度决定步骤^[13]。首先,酶中含有的水分子亲核进

酯^[15]。

七元环 ϵ -己内酯可以被许多不同来源的酶快速催化聚合。脂肪酶 CA 是最为有效的催化剂^[22]。在适宜的反应条件下,可以得到平均分子量超过 89000 的聚酯^[23]。使用超临界二氧化碳(scCO₂)作为溶剂,不仅可以提高反应的产率和产物的分子量,而且酶和溶剂还可以重复使用^[24]。

对于辛内酯,使用 PC 作为催化剂,可以得到较高分子量的聚合物^[8]。

脂肪酶催化大环内酯聚合,可以得到化学催化难以合成的高分子量聚合物。脂肪酶 CA 催化 PDL 聚合,平均分子量达到 34400。固定化酶 PS-30 催化 PDL 聚合,平均分子量可达到 62000^[15]。在大环内酯的催化聚合反应中,脂肪酶 CC、PC、PF、PPL 表现出较高的催化活性,其中 PC 最为有效^[8]。

1.2.2 脂肪酶催化的共聚 脂肪酶可以催化不同单体共聚形成聚酯,如图 3 所示,脂肪酶催化二乙烯基酯、二醇、和内酯共聚,生成平均分子量在 10000 以上的聚酯^[25]。脂肪酶 CA 和 PC 对共聚反应表现出高的反应活性。¹³C NMR 的分析可以表明产物是由不同单体共聚而成的,这说明不同模式的聚合反应(缩聚,开环聚合)可以通过酶催化在一步反应中同时进行。

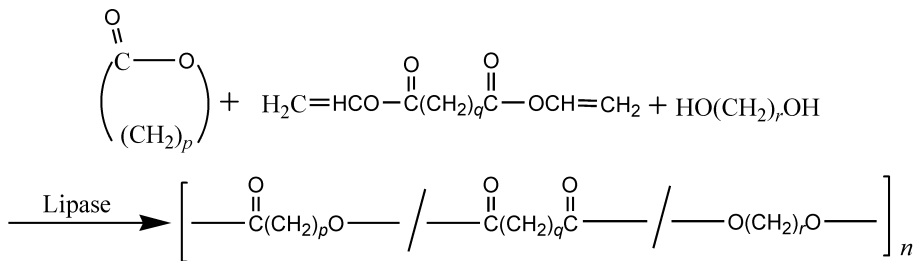


图 3 酶催化的开环共聚反应

Figure 3 Lipase catalyzed ring-opening copolymerizations

不同的内酯,在脂肪酶催化下,同样可以形成共聚物。 ϵ -己内酯和十五酸内酯(摩尔比 1:1)在 Novozyme-435 催化下,不仅发生自身的聚合反应,还可发生聚合物间快速的转酰基或转酯基反应,生成平均分子量 20000 以上的无规共聚物^[8]。

1.2.3 脂肪酶催化合成功能性聚酯 功能性聚酯具有许多工业和生物医药领域的用途。可以被用作共价前药载体,制备接枝和网状聚合物,改变聚合物的亲水性等^[8]。

脂肪酶可以催化一步合成末端功能性的聚酯。以醇作为开环聚合的引发剂,将醇基引入聚合物,成为聚合物的端基。例如使用 2-羟乙基异丁烯酸酯作为引发剂聚合 DDL,异丁烯酰基被定量的引入聚合物的末端,得到异丁烯酰基型的功能性聚酯^[14]。

其它的功能性脂肪酶可以通过脂肪酶特异性的催化来合成。例如对映选择性的缩聚可以合成手性聚酯^[26],而区域选择性缩聚可以得到含有糖基的聚酯等^[27,28]。

2 反应参数对聚酯合成的影响

2.1 酶浓度的影响

Deng 等研究了脂肪酶 Novozyme-435 浓度的变化对 ϵ -己内酯聚合反应的影响^[29]。提高酶浓度,单体的转化率会随之增加。但随着酶浓度的增加,聚合物的平均分子量会降低。

Russell 等研究了酶/底物浓度对二乙烯基己二酸酯和 1,4-丁二醇聚合反应的影响^[30]。一系列动力学实验表明,提高酶/底物浓度,可以在较短的时间内合成较高分子量的聚合产物。

在有机介质的反应中,由于使用的粉末状酶通常不溶解于有机溶剂,会悬浮在溶剂中,一般仅有质量百分数 20%~50%的酶参与了催化聚合反应。为了提高转化率和产物分子量,需要使用大量的酶。如果使用固定化酶,投入少量的酶即可达到同样的催化效果。

2.2 溶剂的影响

在选择聚合所需的溶剂时,不仅需要考虑到反应单体和聚合产物在溶剂中的粘性和溶解性,也要考虑

溶剂对反应平衡的影响。如由内酯生成的脂肪族聚酯在有机溶剂中会被脂肪酶部分降解,但当从反应混合物中除去有机溶剂后,降解产生的低聚物又可以被同样的脂肪酶催化聚合^[14]。

对于在有机介质中进行的酶催化过程来说,溶剂起到保持酶的稳定性和控制反应物与酶分布的作用。可以通过选择适当地溶剂来调节酶的特异性。溶剂的性质影响反应的催化活性;若溶剂的亲水性过强,则会从酶所必需的水合作用中夺取水,改变酶的活性点构造;若溶剂的疏水性过强,则会使水在酶的表面形成水层,减弱酶的催化效果。聚合和降解反应的速率很大程度上取决于介质中水的含量,在最佳水含量下,反应速率将达到最大值。

另一方面,与通常情况不同,脂肪酶催化的二酸、二醇脱水缩聚反应可以在水相中进行。酶不仅可以在有机介质中催化聚合反应,在水介质中同样可以。但如前文所述,水的存在将会限制聚合物分子量的增加。脂肪酶 PC 催化癸二酸和 1,8-辛二醇的水相反应,仅得到分子量 1600 的聚酯^[8]。

有些聚合反应还可以在无溶剂的条件下聚合。例如脂肪酶 CA 催化二酸和 α 、 ω -二醇在无溶剂条件下减压缩聚,可以得到平均分子量超过 10000 的聚合物。研究表明,酶在无溶剂条件下催化合成聚酯不仅分子量更高,分子量的分布更加集中,而且合成的产品有更好的机械性能^[31]。

2.3 反应温度的影响

提高温度可以加快反应速率,但是需要考虑高温使酶产生的变性和钝化。一般的酶催化聚合反应,随着温度的升高,聚合速度呈现先升后降的趋势。使用固定化酶,选择适当溶剂可以提高酶的热稳定性。

在水作为引发剂的聚合反应中,随着反应温度的升高,酶和水之间的氢键将会发生断裂,使固定在酶上的水分子游离出来,引发新的链聚合反应,从而改变产物的分子量。

3 结论

在过去的十年里,酶催化合成聚酯得到了广泛的研究。已经成功地通过酶催化缩聚、转酯基、开环等方法合成了脂肪族聚酯,并以此为原料制成了包装容器、餐具、非纺织织物等。相比于传统方法的聚酯合成,酶催化反应突出的表现出了高选择性、反应条件温和、催化剂无毒无害等优点。并且可以合成手性药物,含有特定官能团的聚酯,含有功能性端基的聚酯。这些都是传统方法所不能比拟的。最近新报道的无溶剂条件反应、超临界二氧化碳为溶剂的反应,更是为聚酯的合成开辟了新的领域。

但是,在酶催化的聚酯合成中还存在着诸如酶价格昂贵,反应所需酶量巨大、反应时间过长,产物分子量相对较低等问题,在一定程度上阻碍了酶催化反应的大规模工业应用。

为了克服这些酶催化合成过程中存在的问题,当务之急是提高酶的活性和催化反应效率。目前作为研究热点的固定化酶技术^[32]、蛋白酶工程^[33]、酶的共价修饰^[34]等技术,已经有效地提高了酶催化反应的效率,在很大程度上减少了酶的用量,提高了产物聚合物的分子量。可以预见,随着这些新技术地开发和应用,酶的性能必将得到进一步的提高。生物催化合成聚合物也将得到更大的发展。

参考文献:

[1] Fujimaki T. Polym Degrad Stab, 1998, 59:209.

[2] 陆大年. 化学工业出版社, 2001, 5:4.

[3] Kobayashi S, Uyama H, Kimura S. Chem Rev, 2001, 101:3793.

[4] Richard A G, Kumar A, Kalra B. Chem Rev, 2001, 101:2097.

脂肪酶缩写对照表	
脂肪酶缩写	脂肪酶英文全称
A	Aspergillus niger lipase
B	Candida antarctica lipase (Novozyme-435)
AYS	Candida rugosa lipase
CC	Candida cylindracea lipase
CCL	Candida cylinderacea lipase
CA	Candida antarctica lipase
PS	Pseudomonas cepacia lipase
PF	Pseudomonas fluorescens lipase
PA	Pseudomonas aeruginosa
PC	Pseudomonas cepacia lipase
PPL	Porcine pancreas lipase
PCL	Pseudomonas cepacia lipase
PR	Pencillium roruaforti lipase
RD	Rhizopus delemer lipase
RJ	Rhizopus japonicus lipase
M	Mucor javanicus lipase
MM	Mucor miehei lipase

- [5] Uyama H, Kobayashi S. *Adv Polym Sci*, 2006,194,133.
- [6] Linko Y Y, Wang Z L. *J Biotech*, 1995,40,133.
- [7] Linko Y Y, Wang Z L, Seppala. *J Enzymol Microb Technol*, 1995,17,506.
- [8] Indra K, Varna, Rajkhowa R, et al. *Prog Polym Sci*, 2005,30,949.
- [9] Matsumura S. *Adv Polym Sci*, 2006,194,95.
- [10] Uyama H, Wada H, Fukui T. *Biochem Eng J*, 2003,16,145.
- [11] Uyama H, Yaguchi S, Kobayashi S. *J Polym Sci; Part A: Polym Chem*, 1999,37,2737.
- [12] Kim D Y, Jonathan S, Dordick. *Biotechnol Bioeng*, 2001,76,200.
- [13] Uyama H, Namekawa S, Kobayashi S. *Polym J*, 1997,29,299.
- [14] Uyama H, Kobayashi S. *J Mol Catal B-Enzym*, 2002,19 20,117.
- [15] Matsumura S. *Adv Polym Sci*, 2006,194, 95.
- [16] Swirkin Y Y, Xu J, Gross R A. *Macromolecules*, 1996,29,4591.
- [17] Nobes G A, Kazlauskas R. *Macromolecules*, 1996,29,4829.
- [18] Xie W, Li J, Chen D, et al. *Macromolecules*, 1997,30,6997.
- [19] Dong H, Wang H, Cao S, et al. *Biotechnol Lett*, 1998,20,905.
- [20] Nobes G A R, Kazlauskas R J, Marchessault R H. *Macromolecules*, 1996,29,4829.
- [21] Uyama H, Kobayashi S. *Chem Lett*, 1993,1149.
- [22] Uyama H, Suda S, Kikuchi H, et al. *Chem Lett*, 1997,1109.
- [23] Ebata H, Toshima K, Matsumura S. *Biomacromolecules*, 2000,1,511.
- [24] Loeker F C, Duxbury C J, Kumar R. *Macromolecules*, 2004,37,2450.
- [25] Namekawa S, Uyama H, Kobayashi S. *Biomacromolecules*, 2000,1,335.
- [26] Kobayashi S, Uyama H, Namekawa S. *Polym Degrad Stab*, 1998,59,195.
- [27] Uyama H, Klegraf E, Wada S, et al. *Chem Lett*, 2000,800.
- [28] 马萌萌,元英进,曾安平. *化学工艺与工程*,2005,22(3),220.
- [29] Deng F, Gross R A. *J Biomol*, 1999,25,153.
- [30] Chaudhary A K, Beckman E J, Russell A J. In *Enzymes in Polymer Synthesis*. Washington DC: American Chemical Society Symposium Series 684, 1998.
- [31] McCabe R W, Taylor A. *Tetrahedron*, 2004,60,765.
- [32] Uyama H, Kuwabara M, Tsujimoto T, ea al. *Polym J*, 2002, 34,970.
- [33] Abraham M. *Curr Opin Biotechnol*, 1996,7,367.
- [34] 马晓建,白净,任珂,等. *化工进展*, 2003,22(8),813.

Enzyme Catalyzed Synthesis of Aliphatic Polyesters

DENG Ming-ming, YU Jiu-gao

(*Department of chemistry of Tianjin University, Tianjin 300072, China*)

Abstract: Aliphatic polyesters is a kind of biodegradable polymer. Enzyme catalyzed synthesis of polyesters is a new technique of polymer synthesis and is an eco-friendly process having several benefits over conventional chemical polymerization. Specific enzyme catalysis provides a novel synthetic route for useful polyesters, many of which are difficult to be synthesized by conventional methodologies. In this article, lipase-catalyzed ring-opening polymerization of lactones, step-growth polycondensation of diacids and diols, hydroxy acids and transesterification of diesters with diols has been reviewed in detail. The effect of reaction parameters, i.e. solvent, temperature, enzyme and monomer concentration, on the rate and molecular weight of the polymers is also discussed.

Key words: Enzyme catalyzed; Aliphatic polyesters; Synthesis