

血红素与乙烯基吡咯烷酮的共聚合及产物表征^{*}

殷耀兵^{*}, 高会东, 苏 雨
(河北工程大学, 邯郸 056038)

摘要:利用血红素卟啉环上的乙烯基与 N-乙烯吡咯烷酮进行共聚反应, 制备得到了血红素-聚乙烯吡咯烷酮水溶性卟啉高分子。采用核磁、红外光谱、GPC 色谱表征了聚合物结构, 同时, 探讨了引发剂用量和投料比对聚合反应的影响。结果表明, 血红素与乙烯基吡咯烷酮能够发生共聚反应, 且生成交联结构。

关键词: 血红素; 聚乙烯吡咯烷酮; 共聚

聚乙烯吡咯烷酮(PVP)具有优异的溶解性、化学稳定性、成膜性、低毒性、生理惰性、粘结能力与胶体保护作用, 而且可以与许多无机和有机化合物结合, 它们逐渐被广泛地应用于国民经济与社会生活的许多领域^[1]。如果将水溶性高分子例如聚乙二醇与血红素进行偶联反应, 提高了血红素的水溶性和稳定性, 所得到聚乙二醇改性的血红素, 表现出过氧化物酶的活性^[2], 也可以作为具有肿瘤靶向作用的氧化酶抑止剂^[3]。N-乙烯基吡咯烷酮(NVP)作为水溶性单体与原卟啉 IX 的共聚反应也有报道^[4], 但是文献没有给出详细的聚合方法、反应条件和表征结果。此外, 原卟啉 IX 一般由血红素制备得到。本文直接利用血红素分子上的乙烯基与 N-乙烯吡咯烷酮共聚, 制备得到了亲水链为 PVP 的水溶性含血红素高分子, 并且探讨了聚合条件, 表征了产物结构, 为以后的进一步探索打下基础。

1 实验部分

1.1 仪器药品

血红素(HP), Procine, 99%, ACROS ORGANICS (New, Jersey, USA) 公司。N-乙烯吡咯烷酮(NVP, Merck Schuchardt 公司), 减压蒸馏后使用。过氧化苯甲酰、吡啶、三氯甲烷、乙醚均为市售分析纯试剂, 经精制后使用。

使用 Varian UNITY Plus-400 核磁共振谱仪(美国瓦里安公司), 以氘代二甲亚砜溶解, 室温下测定¹H-NMR 谱。红外光谱由 Bio-Rad FTS 135 傅里叶红外光谱仪(美国 Bio-Rad Inc.)测得, KBr 压片。以 Waters 510/410 示差折光检测器(美国 Waters 公司)测试聚合物的分子量与分子量分布, 聚苯乙烯作为标准物, 溶剂为氯仿。

1.2 血红素-聚乙烯吡咯烷酮(HPVP)的合成

0.1171g 血红素溶于 10mL 吡啶, 加入新蒸的 N-乙烯吡咯烷酮 2.0g, 过氧化苯甲酰 0.0298g。通入高纯氮气, 80℃ 下反应 3~4h。冷却至室温后, 溶液全部倒入冷却的乙醚中。离心分离, 弃去上部清液。加入氯仿溶解白色沉淀, 过滤除去不溶物质后, 再次倒入乙醚中。得到白色沉淀在 50℃ 条件下真空干燥, 产量 1.5g。

1.3 聚合物中血红素含量的测试

采用光谱方法测定聚合物中血红素含量大小^[2]。在 405nm 波长下, 测出已知浓度聚合物溶液的吸光度, 依下面的公式即可计算聚合物中血红素的含量。

$$A = \epsilon c$$

收稿: 2010-11-07; 修回: 2011-02-23;

基金项目: 河北省自然科学基金(No. B2008000709);

^{*} 通讯联系人: 殷耀兵(1968—), 男, 教授, 博士, 主要从事高分子化学与物理及生物模拟研究, E-mail: yaobingyin85@sina.com。

式中, A 为样品的吸光度, ϵ 为 405nm 波长下血红素的摩尔吸光系数 $1.24 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, b 为样品池厚度, c 为聚合物的浓度。

2 结果讨论

2.1 聚合物表征

图 1 是血红素-聚乙烯吡咯烷酮(HPVP)共聚物的核磁图。可以看出, 由于聚合物中所有重复单元上的对应质子没有处于完全相同的环境, 5 个质子峰都表现为宽而圆钝的吸收峰。 $\delta 3.72 \sim 3.77$ 为聚合物主链次甲基即 6 位碳上质子峰, $\delta 3.23 \sim 3.25$ 为五元环上 5 位碳上质子峰, $\delta 2.37 \sim 2.38$ 为五元环上 3 位碳上质子峰, $\delta 1.91 \sim 1.99$ 为聚合物主链亚甲基即 7 位碳上质子峰, $\delta 1.68 \sim 1.77$ 为五元环上 4 位碳上质子峰。血红素为顺磁性物质, 在 ^1H NMR 谱图中也表现为圆钝的小峰。血红素部分和聚合物部分均未表现出常见的裂分峰。另外, 共聚物在高场的 3 个质子峰($\delta 1.18$, $\delta 5.31$, $\delta 6.54$)都比血红素中的对应吸收峰($\delta 1.14$, $\delta 5.44$, $\delta 6.72$)稍微移向低场。需要指出的是, 在 HPVP 共聚物的核磁谱图中出现了单体乙烯基吡咯烷酮的质子吸收峰。 $\delta 3.5$ 、 $\delta 2.4$ 、 $\delta 2.0$ 处吸收峰分别为五元环 5、3、4 位上多重质子吸收峰。

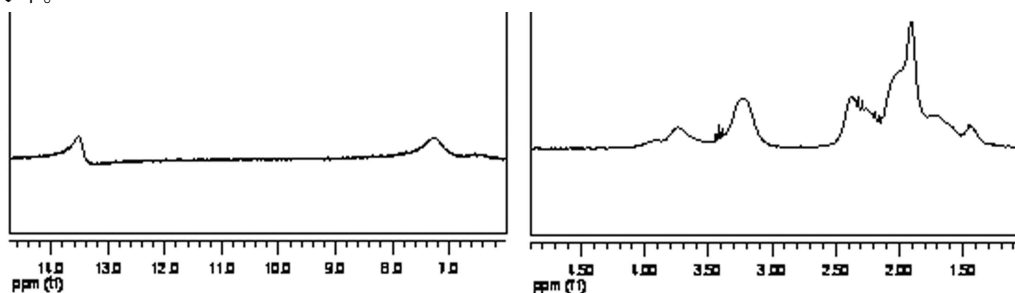


图 1 HPVP 的核磁谱图

Figure 1 ^1H NMR spectra of HPVP(D_2O)

图 2 是 HPVP 共聚物的红外光谱图。聚乙烯吡咯烷酮的特征吸收峰为 1270 cm^{-1} 的 C—N 键伸缩振动和 1690 cm^{-1} 的—CON—强吸收峰。由于聚合反应是在有机溶剂即无水条件下进行的, 所以聚乙烯吡咯烷酮的结合水的吸收峰即 3400 cm^{-1} 的结合水吸收峰没有出现。 2860 cm^{-1} 和 2933 cm^{-1} 处是饱和烷烃的振动吸收峰, $1652 \sim 1715 \text{ cm}^{-1}$ 处是酰胺键的吸收峰。酰胺键吸收峰表现为多重强吸收峰的叠加, 这是由于羰基连在聚合物主链上, 所处环境复杂所导致的。对于每一个乙烯基吡咯烷酮聚合单元来说, 氮原子和氮原子所连接的次甲基都是手性中心。此外, 还可以推测乙烯基吡咯烷酮与血红素共聚近似的无规共聚, 最终导致羰基所处环境复杂多样, 红外光谱上就表现为多重峰的叠加。综合考虑红外光谱图和核磁谱图, 可以表明聚合物中含有聚乙烯吡咯烷酮和血红素成分。

2.2 HPVP 的结构

Greenley^[5,6]总结了 900 多个竞聚率的计算值, 其中给出了 N -乙烯吡咯烷酮与其它近 20 种乙烯类单体共聚的竞聚率。但是没有与血红素和原卟啉上乙烯双键共聚的竞聚率数值。NVP 是一种温和的供电单体, 因此可以与多种水溶或其它极性单体共聚。印度学者 Natarajan 和 Raja^[4]报道了 N -乙烯吡咯烷酮与原卟啉 IX 共聚的反应。但是他们没有报道所用溶剂、引发剂及其它聚合条件、产物结构表征等等。我们认为, 从分子结构来看, 血红素分子含有 2 个乙烯取代基, 它们的活泼性是相同的, 即血红素是 2 官能度单体。另一方面, 与原卟啉不同的是血红素卟啉环的中心与铁离子结合。由于金属阳离子的吸电子作用, 导致卟啉环表现为缺电子共轭芳香体系, 血红素上所连乙烯基可以看作是吸电子单体。因此可以推测, 吸电子单体血红素在与供电电子单体 NVP 共聚时倾向于发生交替共聚, 2 官能度的血红素聚合时可以发挥交联剂作用而形成交联结构。GPC 表征(见下文)所得到的血红素-PVP 共聚物分子量比较大, 分子量分布宽, 水中溶解性差, 可以认为其原因就是交联造成的。

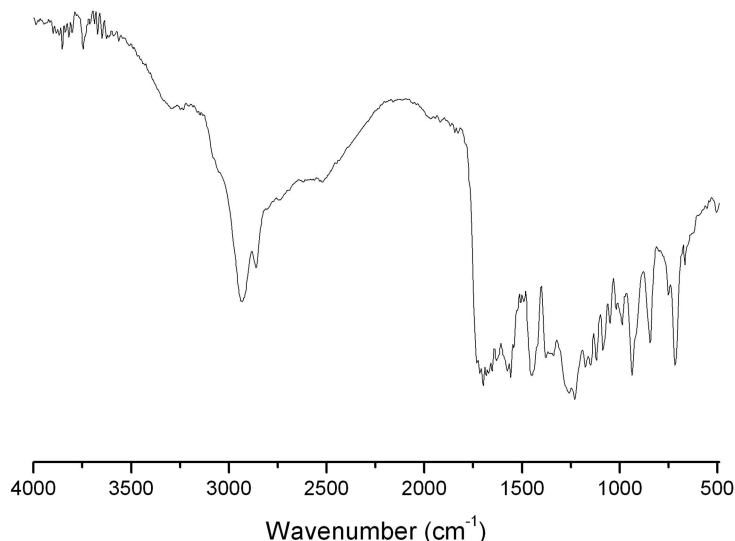


图 2 HPVP 共聚物的红外光谱图

Figure 2 IR spectra of hemin-PVP copolymer

2.3 引发剂用量的影响

研究了过氧化苯甲酰用量对单体转化率的影响,结果见表 1。引发剂用量增大,引发剂分解所生成的活性自由基的浓度提高,则聚合反应单体转化率也升高。引发剂用量很少时,聚合反应无法进行。但是引发剂用量如果太多,则聚合物分子量会降低很多,低分子量聚合物无法从乙醚中沉淀出来,而表现为转化率降低。另外,实验发现引发剂用量较多,达到 2.6%时,由于引发剂为过氧化物,引发剂表现出氧化作用而导致聚合物呈现浅黄至黑褐色等颜色,产物纯度大大降低,而且分子量分布变宽。

表 1 引发剂用量对单体转化率的影响

Table 1 Effect of dosage of initiator on monomer conversion

Dosage of initiator/%	Monomer Conversion/%, After 2h
1.0	41.0
1.5	49.6
1.8	73.5
2.6	52.8

Copolymerization conditions; 80°C; 4h; original concentration of NVP is 40%.

引发剂用量对聚合物数均分子量的影响结果见表 2。可以看出,随着引发剂用量的升高,聚合物的数均分子量逐渐降低。但是二者之间没有严格的定量关系。实验发现,引发剂用量太小时,聚合反应比较难以进行,有时甚至不能聚合。

表 2 引发剂用量对聚合物数均分子量的影响

Table 2 Effect of dosage of initiator on M_n and PDI of polymer

Dosage of initiator/%	M_n^a	PDI ^a
0.15	—	—
1.5	11430	1.60
2.6	8552	1.83

a; Determined by GPC. Copolymerization conditions; 80°C, 4h, original concentration of NVP is 40%.

2.4 单体投料比例对自由基共聚的影响

两种单体的投料比例影响聚合物组成,对聚合反应也有影响。分别测试了不同单体投料比例下,聚合物中血红素的含量,结果见表 3。

表 3 不同投料比下聚合物中血红素含量

Table 3 Content of hemin in copolymer at different materials ratio

Materials ratio(hemin/NVP)	Content of hemin/%
1/50	8.7
1/100	4.1
1/150	3.2
1/200	2.3

Copolymerization conditions: 80℃; 4h; original concentration of NVP is 40%.

从表中看出, 聚合物中血红素的含量基本上与投料比大小趋势一致, 即投料组成中血红素含量高则聚合物中血红素的含量相应也提高。但是, 二者没有明显的线性关系。随着血红素投料增加, 一方面交联增加, 另一方面血红素自聚机会相应提高。实验发现, 血红素投料增加时, 所得到的聚合物溶解性大大降低, 说明含双功能团单体增加, 交联度增加, 聚合物形成网状大分子。交联度高的微相区域, 卟啉环含量高, 卟啉分子之间容易发生聚集, 这对于吸收光谱影响很大。事实上, 除了化学交联之外, 由于聚乙烯吡咯烷酮大分子链极度卷曲, 相互间形成极强的氢键, 进而形成高度物理交联的结构, 其交联程度往往比化学交联更大。综合起来, 聚合物交联、血红素自聚和溶解性降低, 最终都导致光谱测试结果出现偏差, 光谱法测定所得血红素含量与投料量不存在明显的线性关系。

3 结论

利用自由基聚合反应, 将血红素和 *N*-乙烯基吡咯烷酮进行共聚。核磁、红外和 GPC 测试结果表明所得共聚物发生交联。引发剂用量影响单体转化率、共聚物的分子量和分子量分布, 另外, 采用光谱法测得血红素含量与投料量不存在明显的线性关系。

参考文献:

- [1] 崔英德, 易国斌, 廖列文. 聚乙烯吡咯烷酮的合成与应用. 北京: 科学出版社, 2001, 124~126.
- [2] Takahashi K, Matsushima A, Saito Y. Biochem & Biophys Research Commun, 1986, 138(1), 283~288.
- [3] Sahoo S K, Sawa T, Fang J. Bioconjugate Chem, 2002, 13, 1031~1038.
- [4] Natarajan P, Raja C. Eur Polymer J, 2004, 40(10), 2291~2303.
- [5] Haaf F, Sanner A, Straub F. Polymer J, 1985, 17(1), 143~152.
- [6] Greenley R Z. J Macromol Sci-Chem A, 1980, 14(4), 445~515.

Characterization and Copolymerization of Hemin and *N*-vinylpyrrolidone

YIN Yao-bing, GAO Hui-dong, SU Yu

(Hebei University of Engineering, Handan 056038, China)

Abstract: Copolymerization of vinyl group of hemin and *N*-vinylpyrrolidone was performed, and the water-soluble porphyrin polymer of hemin-poly(*N*-vinylpyrrolidone) was obtained. The structure of the polymer was characterized using ¹H NMR, IR spectra and GPC chromatography. Meanwhile, the effect of dosage of initiator and ratio of the two monomers on the polymerization reaction was studied. The results showed that the copolymerization between vinyl group of hemin and *N*-vinylpyrrolidone occurred and a cross-linking copolymer was obtained.

Key words: Hemin; Poly(*N*-vinylpyrrolidone); Copolymerization