



含 *L*-氨基酸基团的手性单体及与 *N*-异丙基丙烯酰胺共聚物的合成

时东新 陈娇娇* 杜显丽 王乐乐 蒋 奕 任绒绒

(天津工业大学环境与化学工程学院 天津 300387)

摘 要 以 *L*-苯丙氨酸 (*L*-Phe)、*L*-色氨酸 (*L*-Trp) 和 *L*-亮氨酸 (*L*-Leu) 3 种常见的氨基酸为手性源, 经过酯化、缩合等步骤制备 3 种手性功能单体 AAc-*L*-Phe (AAc: 丙烯酸)、AAc-*L*-Trp 和 AAc-*L*-Leu, 其结构经过 IR、¹H NMR 确证。并将手性单体 AAc-*L*-Phe 与温敏材料 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NIPAAm) 共聚, 制备了手性共聚物 P(NIPAAm-co-AAc-*L*-Phe), 结构经 IR 确证, 示差扫描量热分析测试证明其具有温敏性。这些手性功能单体有可能用于制备环境响应性手性高分子聚合物。

关键词 手性, *L*-氨基酸, 合成, 手性单体, 共聚物

中图分类号: O621.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2013)07-0740-05

DOI: 10.3724/SP.J.1095.2013.20390

手性药物不同异构体之间尽管理化性质极为相似, 但由于立体构型差异表现出不同的药理活性, 有时甚至会带来严重的毒副作用^[1]。为了提高用药安全, 同时也为了进一步研究手性异构体与机体之间的作用, 手性药物拆分成为近年来医药领域广为关注的课题。近年来以高效液相色谱 (HPLC) 为代表的手性色谱分离技术发展很快, 如手性气相色谱 (GC)、超临界流体色谱 (SFC) 和毛细管电泳 (CE) 等^[2-3], 其技术关键是开发选择性高、适用性广的手性固定相 (CSP), 这就依赖于高性能手性聚合物的开发。此外, 手性膜^[4-5]和手性分子印记聚合物^[6-7]的研究也推动了手性材料的发展。

N-异丙基丙烯酰胺 (NIPAAm) 是典型的温敏性材料, 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺凝胶 (PNIPAAm) 具有约为 32 °C 的较低临界溶解温度 (LCST)^[8]。当外界温度低于 LCST 值时, PNIPAAm 分子链中亲水部分 (—NHCO—) 会发生水合作用, 从而使材料显示出亲水性, 分子链发生溶胀而伸展, 宏观表现为体积增加; 当温度高于 LCST 值时, 酰胺键与水分子之间的氢键被破坏, 分子链之间的作用以异丙基 (—CH(CH₃)₂) 之间的分子间作用力为主, 于是 PNIPAAm 发生脱水合作用, 分子链急剧收缩, 体积减小^[9]。研究还证明, NIPAAm 与其它材料聚合或复合后仍能保持这一特性^[10]。这使得 PNIPAAm 在新型手性分离材料开发中的应用日益增加。Sakamoto 等^[11]将 PNIPAAm 接枝在交联聚丙烯酸钠 (CSP) 吸水树脂表面, 利用 PNIPAAm 的温敏性, 使 CSP 表面随温度变化发生可逆的亲水-疏水变化, 从而产生类似于通过改变流动相极性进行梯度洗脱的效果, 从而可大大提高拆分效率。对甾醇、胰岛素和除草剂等手性药物表现出较好的分离效果^[11]。再如四川大学褚良银等^[12], 利用等离子诱导接枝法在聚碳酸酯膜孔上接枝 PNIPAAm 和 β-环糊精, 制备了智能化手性复合拆分膜; 通过外界温度变化, 可使膜孔上 PNIPAAm 发生可逆性溶胀或收缩, 起到“开关”的作用, 从而可提高膜对手性分子的选择性, 对氨基酸有一定的分离能力^[12]。此外, PNIPAAm 直接与其它手性高分子聚合制备手性分离材料的研究也越来越多^[13-14]。

本文期望利用 PNIPAAm 的温敏性能, 通过在 PNIPAAm 分子链中引入手性基团而使其兼具手性识别和温度响应性, 最终可用于手性分离。该材料制备的关键步骤即是手性单体的制备。*L*-氨基酸 (*L*-AA) 是非常廉价易得的天然手性化合物, 其衍生物被广泛应用于 CSP 的制备^[15]。为此, 首先用常见

的几种 *L*-氨基酸为手性源,经过酯化、缩合等步骤,制备出手性可聚合的功能单体(AAc-*L*-AA),再将其与 NIPAAm 共聚,制备了手性温敏的共聚物。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

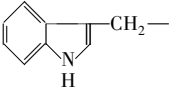
熔点测定采用北京泰克 X-4 型熔点仪,温度计未经校正;红外光谱测定采用 TENSOR37 型傅里叶红外光谱仪(德国 BRUKER 公司),KBr 压片;¹H NMR 用 AVANCE AV 300HZ 型核磁共振波谱仪(德国 BRUKER 公司),CDCl₃ 为溶剂,TMS 为内标;比旋光度用 AUTOPOL VI 型美国鲁道夫高精度旋光仪测定;示差扫描量热分析(DSC)用德国 NETZSCH 公司的 200F3 型示差扫描量热仪测定。

L-苯丙氨酸(*L*-Phe)、*L*-色氨酸(*L*-Trp)、*L*-亮氨酸(*L*-Leu)均为分析纯试剂,购自郑州福润德生物工程有限公司;二氯亚砷,化学纯(购自天津市科密欧化学试剂有限公司);二环己基碳二亚胺(DCC,化学纯,购自上海国药集团化学试剂有限公司);*N*-异丙基丙烯酸酰胺(NIPAAm,纯度≥99%,购自百灵威化学技术有限公司);二氯甲烷(CH₂Cl₂,化学纯,购自天津科锐思化学试剂有限公司)经无水氯化钙干燥,过滤后使用;其它试剂均为市售分析纯,未经处理直接使用。*L*-苯丙氨酸乙酯、*L*-色氨酸甲酯和 *L*-亮氨酸甲酯参考文献[16]方法制备。

1.2 (S)-2-丙烯酰胺基-3-取代丙酸酯(AAc-*L*-AA)的制备

将 25 mmol *L*-氨基酸酯溶于 30 mL 二氯甲烷(CH₂Cl₂)中,加入 2.5 g(25 mmol)三乙胺、5.4 g(25 mmol) DCC 后,冷却至 0 ℃保温缓慢滴加 1.8 g(25 mmol)丙烯酸(AAc)。加毕,升至室温反应 2 h 后,抽虑。滤液加入 100 mL 水混合,用 CH₂Cl₂ 萃取(30 mL×5),合并有机相并用饱和食盐水洗(30 mL×2),无水硫酸钠干燥,过滤后浓缩得到粗产品。粗品经硅胶柱色谱分离(洗脱剂为体积比 5:3 的石油醚-乙酸乙酯)得目标产物(标记为 AAc-*L*-Phe、AAc-*L*-Trp 和 AAc-*L*-Leu,见表 1)。

表 1 手性功能单体(AAc-*L*-AA)的制备
Table 1 Preparation of chiral functional monomers(AAc-*L*-AA)

Compound	R ¹	R ²	Appearance	mp/℃	[α] ₂₅ ^D	Yield/%
AAc- <i>L</i> -Phe	PhCH ₂ —	CH ₃ CH ₂ —	white crystal powder	63 ~ 64	-80.7 ^a	44.5
AAc- <i>L</i> -Trp		CH ₃ —	pale yellow oil	—	23.3 ^b	40.3
AAc- <i>L</i> -Leu	(CH ₃) ₂ CH—	CH ₃ —	yellow waxy solid	44 ~ 45	-38.8 ^c	58.2

[α]₂₅^D measuring conditions: a. c 1.6, C₂H₅OH; b. c 0.4, C₂H₅OH; c. c 0.4, C₂H₅OH.

AAc-*L*-Phe、AAc-*L*-Trp 和 AAc-*L*-Leu 经 IR 和¹H NMR 结构表征数据如下:

(*S*)-2-丙烯酰胺基-3-苯基丙酸乙酯(AAc-*L*-Phe):¹H NMR(CDCl₃,300 MHz),δ:1.28(t,*J*=8 Hz,3H),3.26~3.30(m,2H),4.21(q,*J*=8 Hz,2H),5.07~5.11(m,1H),6.60~6.65(m,1H),7.15~7.22(m,2H),7.40~7.53(m,5H);IR(KBr),σ/cm⁻¹:3312,3033,2931,2855,1679,1527,1449,1210,910,743,699。

(*S*)-2-丙烯酰胺基-3-(1*H*-吡啶基)丙酸甲酯(AAc-*L*-Trp):¹H NMR(CDCl₃,300 MHz),δ:3.69(s,3H),3.36(d,*J*=6 Hz,1H),5.02~5.06(m,1H),5.29(s,1H),5.64(d,*J*=9 Hz,1H),6.07(d,*J*=12 Hz,1H),6.07(dd,*J*=9 Hz,*J*=12 Hz,1H),6.95(s,1H),7.10~7.53(m,4H),8.38(s,1H);IR(KBr),σ/cm⁻¹:3300,3056,2953,2853,2927,1735,1696,1626,1534,1437,1352,1410,1180,1100,982,928,744,702。

(*S*)-2-丙烯酰胺基-4-甲基戊酸甲酯(AAc-*L*-Leu):¹H NMR(CDCl₃,300 MHz),δ:0.97(d,*J*=8 Hz,6H),1.54~1.67(m,1H),1.69~1.73(m,2H),3.77(s,3H),4.73~4.80(m,1H),5.71(d,*J*=10.2 Hz,1H),6.10(d,*J*=5 Hz),6.34(dd,*J*=8 Hz,*J*=5 Hz,1H);IR(KBr),σ/cm⁻¹:3257,3073,2961,2870,1659.58,1552,1428,1334,1212,1151,977。

1.3 手性共聚物 P(NIPAAm-co-AAc-L-Phe) 的制备

将制备的手性单体(AAc-L-Phe)和NIPAAm按AAc-L-Phe质量分数分别为0、5%和10%(AAc-L-Phe + NIPAAm总质量为0.30 g)溶于10 mL水-乙醇混合溶剂($V(\text{去离子水}):V(\text{无水乙醇})=3:1$)中,加入单体总摩尔量1%的偶氮二异丁腈(AIBN)作引发剂,溶解后充 N_2 气20 min,密封。60℃反应12 h,得到白色粉末,过滤并用去离子水洗涤,60℃下真空干燥至恒重,结构经IR进行表征,测其在无水乙醇中的比旋光度。

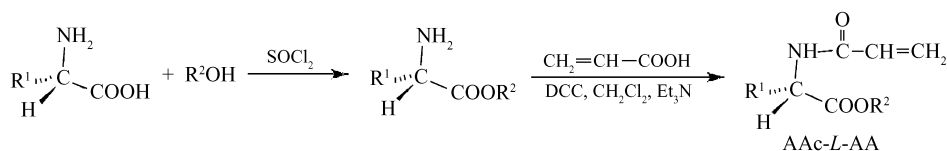
1.4 示差扫描量热分析

将在去离子水中溶胀平衡的聚合物样品放入示差扫描量热仪(DSC)的样品池中,在 N_2 气中,从15℃升温至50℃,升温速率为2℃/min,由样品吸热峰的初始温度定义为LCST值。

2 结果与讨论

2.1 手性单体的合成

为了在手性单体中引入可聚合双键,将L-氨基酸酯与丙烯酸反应生成丙烯酸酰胺,使其成为具有旋光性、含有双键($-\text{CH}_2=\text{CH}_2-$)的功能单体,进而能制备手性高分子聚合物。合成路线如Scheme 1所示。



Scheme 1 Synthetic route of chiral functional monomers(AAc-L-AA)

该合成路线所采用的反应均为常规反应方法,不涉及特殊试剂,反应条件温和,实验室中容易实施。在与丙烯酸缩合之前,先对L-氨基酸羧基进行酯化保护,不仅避免了L-氨基酸自身缩合产生副产物,而且酯化后产物在有机溶剂中溶解度增加,便于缩合反应的进行。L-氨基酸与丙烯酸的缩合反应常温下即可进行,反应温度不宜过高,否则会引起丙烯酸的自聚合反应,而导致旋光率下降。

2.2 手性共聚物 P(NIPAAm-co-AAc-L-Phe) 的合成及其温敏性

为考察所制备的手性单体的反应活性,以单体AAc-L-Phe为例,将其与NIPAAm以不同AAc-L-Phe质量分数(0、5%、10%)进行自由基共聚,得到白色粉末状产物。从其红外光谱(图1)可以看出, $w(\text{AAc-L-Phe})$ 为0、5%和10%的所有谱线均在1650、1547和1273 cm^{-1} 处存在酰胺I带、II带和III带的特征峰,它们分别是 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动, $\text{N}-\text{H}$ 的面内弯曲振动与 $\text{C}-\text{N}$ 键的伸缩振动峰。在3030 cm^{-1} 处是 $\text{Ar}-\text{H}$ 的伸缩振动峰,随着手性单体量的增加峰的强度有所增强。并且在1027 cm^{-1} 处出现了 $\text{Ar}-\text{H}$ 的面内弯曲振动峰,在702 cm^{-1} 也有明显的特征吸收峰,这是 $\text{Ar}-\text{H}$ 的变形振动峰同时证明苯环是单取代,并且这些峰强度随着手性单体AAc-L-Phe量的增加而增强。此外,比较 $w(\text{AAc-L-Phe})=0$ 与5%、10%的谱图可以发现,手性单体AAc-L-Phe与NIPAAm的共聚物在1727 cm^{-1} 处存在酯羰基($\text{C}=\text{O}$)伸缩振动吸收峰,吸收峰随手性单体AAc-L-Phe含量增加而增强。此外,测定聚合物的比旋光度为-93.5,与手性单体AAc-L-Phe(比旋光度为-80.7)相对应,具有旋光性,证明获得手性聚合物。

由于所制备的手性共聚物P(NIPAAm-co-AAc-L-Phe)含有温敏性成分NIPAAm,为此,采用示差扫描量热分析测试了它的温敏性,结果见图2。从图2可看到,3个共聚物均具有温敏性,但与PNIPAAm($w(\text{AAc-L-Phe})=0$,LCST为32.5℃)相比,与手性单体共聚合后,DSC曲线中的吸热峰对应的温度(LCST)随着手性单体含量的增加而下降,分别为31.4℃($w(\text{AAc-L-Phe})=5\%$)和31.0℃($w(\text{AAc-L-Phe})=10\%$)。这是由于在PNIPAAm中存在亲水/疏水平衡,其中 $-\text{NHCO}-$ 为亲水基团,而 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 为疏水基团,对应于凝胶内部的亲水、疏水区域。在外界温度较低(低于其LCST)时,PNIPAAm高分子链上的亲水基团通过氢键与水分子结合,导致水凝胶溶胀吸水。温度上升时,这种氢键作用减弱,而高分子链中疏水基团间的相互作用加强;温度上升至其LCST以上时,高分子链间的疏水作用起主导作用,分子链通过疏水作用互相聚集,发生急剧收缩。在与手性单体聚合后,由于其结构具有苯环

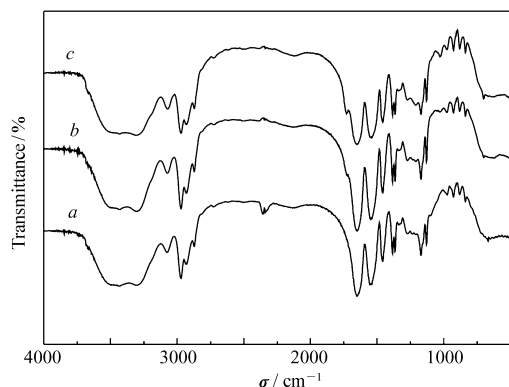


图 1 手性共聚物的红外光谱

Fig.1 The comparative infrared spectra of the three chiral polymers with different mass ratios

$w(\text{AAc-L-Phe})/\%$: a. 0; b. 5; c. 10

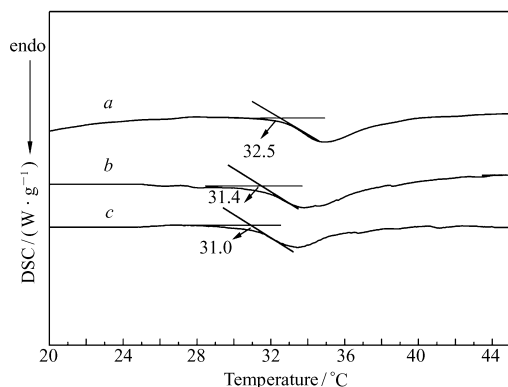


图 2 手性共聚物的 DSC 图

Fig.2 DSC of copolymers with different weight ratios

$w(\text{AAc-L-Phe})/\%$: a. 0; b. 5; c. 10

等疏水基团,降低了整个高分子链的亲水/疏水比,使得高分子链与水分子形成的氢键数目减少,破坏这些氢键需要的能量较小。因此在较低温度下即可使高分子链发生收缩,表现为聚合物 LCST 下降。随着手性单体含量增加,高分子链亲水/疏水比越低,聚合物的 LCST 随之降低。

3 结 论

以常见的氨基酸 *L*-苯丙氨酸、*L*-色氨酸和 *L*-亮氨酸等为手性源,经过酯化保护羧基后,在 DCC 作用下与丙烯酸缩合反应制备了 3 个手性功能单体 AAc-*L*-Phe、AAc-*L*-Trp 和 AAc-*L*-Leu。将其与温敏材料 NIPAAm 进行共聚,制备了手性共聚物 P(NIPAAm-co-AAc-*L*-Phe)。其乙醇溶液中的旋光测定结果表明,单体和共聚物均具有旋光性,DSC 分析证明,手性聚合物具有温敏性。为手性功能单体和其手性共聚物的制备提供了一种简便方法。

参 考 文 献

- [1] YOU Qidong, LIN Guoqiang. Chiral Drugs——Research and Application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 26-48 (in Chinese).
尤启冬, 林国强. 手性药物——研究与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 26-48.
- [2] Maier N M, Franco P, Lindner W. Separation of Enantiomers: Needs, Challenges, Perspectives[J]. *J Chromatogr A*, 2001, **906**(1/2): 3-33.
- [3] Francotte E R. Enantioselective Chromatography as a Powerful Alternative for the Preparation of Drug Enantiomers[J]. *J Chromatogr A*, 2001, **906**(1/2): 379-397.
- [4] LI Li, ZI Min, REN Zhaoxing, *et al.* The Development of Chiral Stationary Phase in Gas Chromatography[J]. *Prog Chem*, 2007, **19**(2/3): 393-403 (in Chinese).
李莉, 字敏, 任朝兴, 等. 气相色谱手性固定相研究进展[J]. 化学进展, 2007, **19**(2/3): 393-403.
- [5] Jang H K, Jee H K, Jonggeon J, *et al.* Optical Resolution of Alpha-amino Acids Through Enantioselective Polymeric Membranes Based on Polysaccharides[J]. *J Membr Sci*, 2003, **213**(1/2): 273-283.
- [6] WANG Jinfang, ZHOU Liangmo, LIU Xueliang, *et al.* Effect of Functional Monomer on Chiral Separation Ability of Molecular Imprinted Chiral Stationary Phase[J]. *Acta Chim Sin*, 2000, **58**(3): 351-355 (in Chinese).
王进防, 周良模, 刘学良, 等. 功能单体对分子烙印手性固定相手性拆分能力的影响[J]. 化学学报, 2000, **58**(3): 351-355.
- [7] Bernal J L, Toribio L, Nozal M J. Separation of Antifungal Chiral Drugs by SFC and HPLC: A Comparative Study[J]. *J Biochem Biophys Methods*, 2002, **54**(1/3): 245-254.
- [8] HOU Changjun, ZHOU Xuesong, HUO Danqun, *et al.* Development of Structural Modification and Performance Research of NIPA Series Thermosensitive Hydrogels[J]. *Mater Rev*, 2008, **22**(7): 36-37 (in Chinese).
侯长军, 周雪松, 霍丹群, 等. NIPA 系温敏凝胶结构改性及性能研究进展[J]. 材料导报, 2008, **22**(7): 36-37.
- [9] Winnik F M. Fluorescence Studies of Aqueous-solutions of Poly(*N*-isopropylacrylamide) Below and Above Their Lcst[J]. *Macromolecules*, 1990, **23**(1): 233-242.

- [10] Schild H G, Tirrell D A. Microcalorimetric Detection of Lever Critical Solution Temperature in Aqueous Polymer Solution [J]. *J Phys Chem*, 1990, **94**(10):4352-4356.
- [11] Sakamoto C, Okada Y, Kanazawa H, *et al.* Temperature- and pH-responsive Aminopropyl-silica Ionexchange Columns Grafted with Copolymers of *N*-Isopropylacrylamide[J]. *J Chromatogr A*, 2004, **1030**(1/2):247-253.
- [12] Xie R, Chu L Y, Chen W M, *et al.* Characterization of Microstructure of Poly(*N*-isopropylacrylamide)-grafted Polycarbonate Tracketched Membranes Prepared by Plasma-graft Pore-filling Polymerization[J]. *J Membr Sci*, 2005, **258**(1/2):157-166.
- [13] Kaori K, Toshiaki S, Akira D. Enantiomeric Separation Using Temperature-responsive Chiral Polymers Composed of Valine Diamide Derivatives in Aqueous Liquid Chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2003, **1012**(1):47-56.
- [14] Wang D X, Zhang X X, Zhang J L, *et al.* Separation and Recognition of the Enantiomers of Trans Arylcyclopropanecarboxylic Acids and Their Amide and Nitrile Derivatives on Polysaccharide Stationary Phases[J]. *Chromatogr*, 2007, **65**(5/6):343-348.
- [15] WANG Xiaodong, YAO Jinshui, WEI Mingxing, *et al.* Enantioselection and Development in Chiral Stationary Phase Based on Amino Acid[J]. *Chinese J Org Chem*, 2006, **26**(7):912-921 (in Chinese).
王晓东, 姚金水, 魏明星, 等. 手性识别及氨基酸类手性固定相的研究进展[J]. *有机化学*, 2006, **26**(7):912-921.
- [16] WANG Qingdong. The Synthesis and Biological Assay of Ethyl *L*- α -Amino Acid Ester [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2007 (in Chinese).
王庆东. *L*- α -氨基酸衍生物的合成与生物活性测定[D]. 上海: 上海师范大学, 2007.

Synthesis of Chiral Functional Monomers Containing *L*-Amino Acid Groups and Their Copolymers with *N*-Isopropylacrylamide

SHI Dongxin, CHEN Jiaojiao*, DU Xianli, WANG Lele, JIANG Yi, REN Rongrong

(School of Environmental and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China)

Abstract Three chiral functional monomers containing *L*-phenylalanine (*L*-Phe), *L*-tryptophane (*L*-Trp) and *L*-leucine (*L*-Leu) were designed and synthesized and used as precursors for preparing of chiral polymers. After esterification and condensations, AAc-*L*-Phe (AAc: acrylic acid), AAc-*L*-Trp and AAc-*L*-Leu were obtained and characterized by IR and ¹H NMR. Then the subsequent copolymerization between AAc-*L*-Phe and *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm) was carried out in different mass ratio. The resulted polymers were identified by IR and differential scanning calorimetry (DSC) and proved that all of them are optical active and thermo-sensitive materials. The successful synthesis of chiral polymers suggested that these chiral monomers can be applied to the preparation of chiral polymers.

Keywords chirality, *L*-amino acids, synthesis, functional monomers, copolymer