

壳寡糖希夫碱配合物的微波合成及结构表征

杨楠^a 徐翠莲 王彩霞 樊素芳 万峥凯 赵铭钦^a

(河南农业大学理学院 郑州市农业路 63 号 450002)

^a(河南农业大学烟草学院国家烟草栽培生理生化研究基地 郑州市农业路 63 号 450002)

摘 要 采用微波辐射加热法,以壳寡糖为原料,设计并合成了一系列壳寡糖希夫碱的金属配合物,其结构经紫外吸收、红外光谱、元素分析、ICP 光谱和热重分析确认。该法具有反应时间短、温度条件易控、操作简便等特点,是一个值得推广的绿色合成方法。

关键词 壳寡糖;希夫碱;微波合成;结构表征

中图分类号:O 657. 61

文献标识码:A

文章编号:1004-8138(2010)03-0867-05

1 引言

壳寡糖(Chitooligosaccharides, COS)也称几丁寡糖,通常是由甲壳素(虾、蟹壳等)脱乙酰化的产物壳聚糖经生物技术降解而获得的低分子量、聚合度为2—20的低聚 β -(1,4)-2-氨基葡萄糖。我国甲壳素资源十分丰富,目前每年生产约2000—3000吨,因此,对它的开发利用具有十分重要的意义^[1]。已有研究发现,壳寡糖具有良好的细胞亲和力,能有效保护并促进细胞分化和生长^[2-5];可以提高机体的免疫能力^[6]和抗病能力^[7,8];改善肠道微生物的区系分布,刺激有益菌的生长^[9];还可以作为植物功能调节剂刺激植物生长,增强植物对病虫害的防御能力^[10]。但由于不溶于普通有机溶剂,因而限制了它在水处理、医药、环保、食品、农业等领域的广泛应用。壳寡糖分子结构中除了含羟基外,还有活泼的氨基,因此,在NH₂或OH上引入活性基团,改善其溶解性和生物活性是壳寡糖应用开发的重要课题^[11]。本文以壳寡糖为原料,用微波辐射方法合成了一系列壳寡糖希夫碱配合物,并对组成与结构进行了表征。

2 实验部分

2.1 主要仪器与试剂

XH-100A 型微波合成/萃取仪(北京祥鸽科技发展有限公司);SHB-3 型循环水多用真空泵(郑州杜甫仪器厂);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);Nicolet IS10 傅里叶红外光谱仪(美国Thermo 公司);Flash EA 1112 元素分析仪(美国Thermo Fisher 公司);Thermo iCAP 6500 光谱仪(美国Thermo Fisher 公司)。

壳寡糖(分子量< 3000,脱乙酰度> 90%,山东奥康生物科技有限公司);醋酸铜、氯化钴、硝酸银、乙酸镍、乙酸锰、乙酸锌(分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心);水杨醛(化学纯,国药集团

国家烟草专卖局重大科技攻关项目(110200401004)

联系人,电话:(0371)63558138;E-mail: xucuilian666@126.com

作者简介:徐翠莲(1965—),女,河南省西平县人,博士,教授,主要从事有机合成研究工作。

收稿日期:2009-09-07;接受日期:2009-09-22



化学试剂有限公司); 5-硝基水杨醛、5-溴水杨醛和5-氯水杨醛(工业级, 上海海曲化工有限公司), 用前重结晶; 氢氧化钠(分析纯, 天津市德恩化学试剂有限公司); 无水乙醇(分析纯, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司), 用前做绝对无水处理。

2.2 壳寡糖希夫碱(S-COS)的制备

将壳寡糖在 25mL 绝对无水乙醇溶剂中浸泡溶胀后, 加入略过量的水杨醛或取代水杨醛和适量 NaOH (调节溶液 pH 值为弱碱性), 微波加热回流反应 2h。反应结束后, 抽滤干燥, 并用乙醇索氏提取产物 24h, 以除去产品中多余水杨醛及取代水杨醛, 产品在低于 50 °C 下真空干燥。

2.3 壳寡糖希夫碱金属配合物(S-COS-M)的制备

将等量的饱和的金属盐乙醇溶液和上述制备的壳寡糖希夫碱(S-COS)在绝对无水乙醇溶剂中微波加热回流 2h。反应结束后, 抽滤干燥, 并用乙醇索氏提取产物 24h, 以除去产品中多余金属盐, 产品在低于 50 °C 下真空干燥。

3 结果与讨论

3.1 紫外吸收分析

表 1 为壳寡糖及其希夫碱紫外吸收光谱数据, 可以看出, COS 在 212 和 205nm 处有 2 个强而窄的吸收峰, 在大于 212nm 波长范围无明显吸收。S-COS 在 297—325nm 处的吸收峰为酚亚胺的吸收, 归属于从苯环到亚胺基的电荷转移跃迁, 其特点是跃迁几率小, 吸收强度弱; 241—269nm 处的吸收峰为芳香类化合物特有的 B 带吸收带, 这是由于 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁和苯环的振动的重叠引起的; 215—220nm 是苯环的 K 带吸收峰, 特点是吸收强度大, 这是由于共轭双键中 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所产生的。当 S-COS 和金属 M 形成配合物后(见表 2), 酚亚胺的吸收峰大致表现出紫移态势^[12], 表明 C=N 的 N 原子参与了配位, 而且苯环的 B 带和 K 带发生了紫移, 这是由于 C=N 的 N 原子参与了配位, 破坏了分子的有序性, 从而使跃迁能级增大, 吸收光谱发生了紫移。

表 1 壳寡糖(COS)及壳寡糖希夫碱(S-COS)的紫外吸收光谱数据

化合物	nm	nm	nm	nm
壳寡糖(COS)	205	212		
水杨基壳寡糖希夫碱		215	257	325
5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱		217	269	327
5-溴水杨基壳寡糖希夫碱	216	220	249	297
5-氯水杨基壳寡糖希夫碱		219	241	299

注: 取 0.001g 样品溶于 5mL 蒸馏水中比色。

表 2 壳寡糖希夫碱金属配合物(S-COS-M)中 C=N 的吸收峰位置

M	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ag ⁺	Ni ²⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺
水杨基壳寡糖希夫碱合M	313	321	315	315	317	314
5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱合M	306	305	302	310	302	307
5-溴水杨基壳寡糖希夫碱合M	294	297	295	296	296	296
5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合M	293	296	290	294	295	293

3.2 红外光谱分析

图 1、表 3 是壳寡糖及其希夫碱的红外光谱及数据。在壳寡糖的红外光谱中, 3415cm⁻¹ 是 O—H 伸缩振动, 3236cm⁻¹ 是 N—H 上伸缩振动, 1720cm⁻¹ 是 C=O 伸缩振动, 1081cm⁻¹ 是 C—O 伸缩振动。在 S-COS 的红外光谱中, O—H 和 N—H 上的伸缩振动与 COS 相比发生了红移, 在 1633—1640cm⁻¹ 附近出现了 C=N 伸缩振动峰, 这是希夫碱酚亚胺的特征吸收^[13], 并且在 1481—1492, 1512—1616cm⁻¹ 附近出现了苯环的骨架振动, 在 1270cm⁻¹ 附近出现了酚羟基的弯曲振动吸收, 这

些新峰是由取代水杨醛与壳寡糖反应生成希夫碱所产生的。

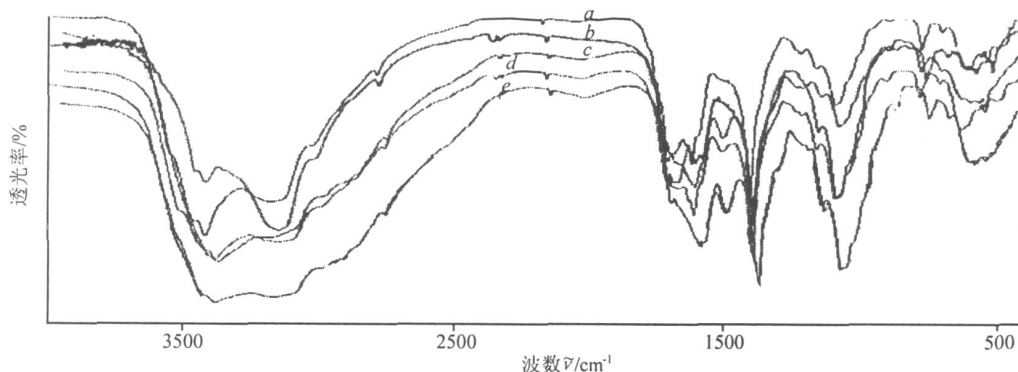


图 1 壳寡糖(COS)及壳寡糖希夫碱(S-COS)的红外光谱

a——壳寡糖; b——水杨基壳寡糖希夫碱; c——5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱;
d——5-溴水杨基壳寡糖希夫碱; e——5-氯水杨基壳寡糖希夫碱。

表 3 壳寡糖(COS)及壳寡糖希夫碱(S-COS)的红外光谱数据 (cm⁻¹)

化合物	ν _{O-H}	ν _{N-H}	ν _{C=O}	ν _{C=N}	ν _r	ν _{r-OH}	ν _{C-O}
壳寡糖	3415	3236	1720				1081
水杨基壳寡糖希夫碱	3413	3232	1722	1636	1616, 1492	1274	1078
5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱	3409	3230	1722	1640	1616, 1545, 1519	1234	1075
5-溴水杨基壳寡糖希夫碱	3403	3230	1720	1633	1600, 1514, 1478	1274	1072
5-氯水杨基壳寡糖希夫碱	3407	3081	1700	1635	1577, 1512, 1481	1274	1068

表 4 壳寡糖希夫碱金属配合物(S-COS·M)中C=N键位置 (cm⁻¹)

M	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ag ⁺	Ni ²⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺
水杨基壳寡糖希夫碱合M	1631	1624	1629	1628	1628	1629
5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱合M	1629	1626	1630	1627	1630	1628
5-溴水杨基壳寡糖希夫碱合M	1626	1625	1627	1627	1628	1629
5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合M	1628	1629	1628	1628	1631	1630

表4是壳寡糖希夫碱金属配合物中酚亚胺特征吸收峰的位置。S-COS·M的酚亚胺的吸收峰的位置相较于S-COS发生了红移,而且S-COS在1270cm⁻¹附近出现的酚羟基的弯曲振动吸收也消失了,说明氮原子和酚羟基上的氧原子参与了配位,这表明金属M与壳寡糖希夫碱之间形成了螯合物。

3.3 元素分析与 ICP 光谱测定

壳寡糖及壳寡糖希夫碱元素分析数据(表5)表明,S-COS中主要元素的含量随着水杨醛取代基的变化而变化,进一步确定了取代水杨醛与壳寡糖发生了反应。壳寡糖希夫碱金属配合物ICP光谱测试分析(表6)表明,S-COS·M中含有少量金属离子,这也进一步说明了金属M与壳寡糖希夫碱之间形成了螯合物,但由于壳寡糖的部分-NH₂与乙酰基结合,造成了测量的金属含量值略低于理论估计值。

表 5 壳寡糖(COS)及壳寡糖希夫碱(S-COS)的元素分析数据 (%)

化合物	C	H	N
水杨基壳寡糖希夫碱	58.99	6.47	5.00
5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱	51.69	5.27	8.61
5-溴水杨基壳寡糖希夫碱	46.81	4.77	3.90
5-氯水杨基壳寡糖希夫碱	53.42	5.44	4.45

表 6 壳寡糖希夫碱金属配合物(S-COSM)中金属含量的 ICP 光谱测试分析 (%)

M	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ag ⁺	Ni ²⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺
水杨基壳寡糖希夫碱合M	6.21	5.43	7.71	5.45	5.95	5.93
5-硝基水杨基壳寡糖希夫碱合M	6.77	6.19	6.65	5.85	5.22	6.20
5-溴水杨基壳寡糖希夫碱合M	5.96	6.03	6.54	5.93	5.98	5.84
5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合M	7.05	6.31	7.32	5.89	5.85	6.34

3.4 热稳定性分析

选择壳寡糖(COS)、5-氯水杨基壳寡糖希夫碱和5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合铜做热重分析。如图2所示,100℃以前的失重是失水所致,壳寡糖(COS)在150—250℃较为缓慢的失重,而5-氯水杨基壳寡糖希夫碱和5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合铜在200—250℃重量急剧下降,与壳寡糖(COS)形成鲜明对比。5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合铜出现失重的时间早于壳寡糖(COS)和5-氯水杨基壳寡糖希夫碱,这可能是由于5-氯水杨基壳寡糖希夫碱与铜配位后,其分子内的氢键结合被破坏,结晶度发生改变,热稳定性减小的原因。

4 结论

采用微波辐射加热法用水杨醛对壳寡糖进行化学改性,得到了一种新型化学改性壳寡糖希夫碱化合物(S-COS),然后将此配体与铜、钴、银、镍、锰和锌离子发生配位反应,得到壳寡糖希夫碱金属配合物(S-COSM)。用紫外吸收和红外光谱对目标化合物进行了表征,其中C=N的产生表明水杨醛接枝到了壳寡糖分子链上,C=N的位移表明了金属配合物的生成,然后经元素分析或ICP光谱分析进行了结构确认,最后对壳寡糖、5-氯水杨基壳寡糖希夫碱、5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合铜作热稳定分析研究。与常规合成方法相比,微波辐射加热合成方法具有反应时间短、温度条件易控、操作简便等特点,是一个值得推广的绿色合成方法。

参考文献

- [1] Kim S, Rajapakse N. Enzymatic Production and Biological Activities of Chitosan Oligosaccharides (COS): A Review [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2005, **62**(4): 357—368
- [2] Ngo D, Kim M, Kim S. Chitin Oligosaccharides Inhibit Oxidative Stress in Live Cells [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, **74**(2): 228—234
- [3] Liu H, Li W, Xu G *et al*. Chitosan Oligosaccharides Attenuate Hydrogen Peroxide-Induced Stress Injury in Human Umbilical Vein Endothelial Cells [J]. *Pharmacological Research*, 2009, **59**(3): 167—175
- [4] Yang Y, Liu M, Gu Y *et al*. Effect of Chito oligosaccharide on Neuronal Differentiation of PC-12 Cells [J]. *Cell Biology International*, 2009, **33**(3): 352—356
- [5] Ohara N, Hayashi Y, Yamada S *et al*. Early Gene Expression Analyzed by cDNA Microarray and RT-PCR in Osteoblasts Cultured with Water-Soluble and Low Molecular Chito oligosaccharide [J]. *Biomaterials*, 2004, **25**(10): 1749—1754
- [6] Hoffman J, Johansen A, Steiro K *et al*. Chito oligosaccharides Stimulate Atlantic Salmon, Salmo Salar L., Head Kidney Leukocytes to Enhanced Superoxide Anion Production In Vitro [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 1997, **118**(1): 105—115
- [7] Xu Q, Dou J, Wei P *et al*. Chito oligosaccharides Induce Apoptosis of Human Hepatocellular Carcinoma Cells Via Up-Regulation

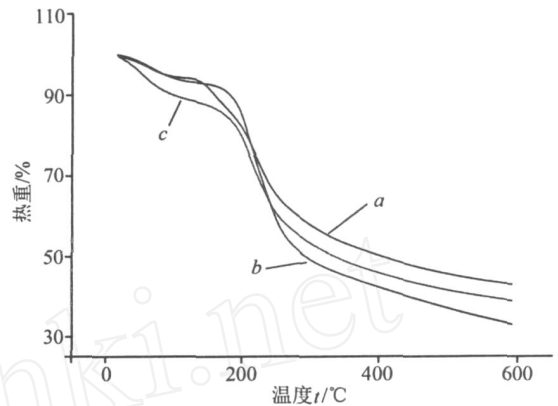


图 2 壳寡糖(COS)、5-氯水杨基壳寡糖希夫碱和5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合铜的热重分析
a——壳寡糖; b——5-氯水杨基壳寡糖希夫碱;
c——5-氯水杨基壳寡糖希夫碱合铜。

- of Bax[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, **71**(4): 509—514
- [8] Jeon Y, Park P, Kim S. Antimicrobial Effect of Chitooligosaccharides Produced by Bioreactor[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2001, **44**(1): 71—76
- [9] 张虎, 杜昱光, 虞星炬. 几丁寡糖与壳寡糖的制备和功能[J]. 中国生化药物杂志, 1999, **20**(2): 99—101
- [10] Roby D, Gadelle A, Toppan A. Chitin Oligosaccharides as Elicitors of Chitinase Activity in Melon Plants[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1987, **143**(3): 885—892
- [11] 孙晓丽, 辛梅华, 李明春等. N,N-双十二烷基壳聚糖的制备[J]. 化工进展, 2006, **25**(9): 1095—1097
- [12] 冯长建, 乐芝凤, 张香才等. D-葡萄糖胺席夫碱铜(II)螯合物的合成与表征[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1994, **28**(4): 499—502
- [13] 孙伟, 夏春谷, 王爱勤. 壳聚糖希夫碱铜多相催化剂催化苯乙烯环丙烷化反应研究[J]. 化学学报, 2002, **60**(1): 162—165

Microwave Synthesis and Characterization of Chitooligosaccharides Schiff Base Complexes

YANG Nan^a XU Cui-Lian WANG Cai-Xia FAN Su-Fang WAN Zheng-Kai ZHAO Min-Qin^a
 (College of Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, P. R. China)
^a(National Tobacco Cultivation & Physiology & Biochemistry Research Center, College of Tobacco,
 Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, P. R. China)

Abstract A series of chitooligosaccharides Schiff base complexes were synthesized from chitooligosaccharides under microwave irradiation and their structures were characterized by UV, IR, element analysis, ICP spectroscopy and TG. This method has advantages such as short time, easy operation and environmentally benign procedures compared with traditional method.

Key words Chitooligosaccharides; Schiff Base; Microwave Synthesis; Characterization

上网查阅核心期刊的方法

1. 在浏览器的地址栏上输入“核心期刊”。当出现菜单后, 点击“核心期刊目录”, 再点击“中文核心期刊要目总览(2008版)”, 即可查阅各学科的“核心期刊”。若要查阅《光谱实验室》, 请查第4编: 自然科学, 再查“O6/O7—化学/晶体学”, 第21号即是。

也可以在浏览器的地址栏上输入www.google.cn 或 www.baidu.com, 再输入“核心期刊”后, 点击“中文核心期刊要目总览(2008版)”, 即可查阅各学科的“核心期刊”。

2. 上中国期刊网, 点击“核心期刊导航”。

1) 在浏览器上输入“www.cnki.net”然后回车, 进入中国知网(即中国期刊网)首页。

2) 找到“学术文献总库特色导航”, 点击“期刊大全(9017种)”, 进入“中国学术文献网络出版总库”。

3) 点击左侧“核心期刊导航”, 首页出现后, 找到“第四编自然科学(351种期刊)”, 即可查阅自然科学各学科的“核心期刊”。若要查阅《光谱实验室》, 请点击“化学/晶体学类”, 出现期刊的“图形方式”(即期刊的封面)后, 在第1页的第3排左起第3图即为《光谱实验室》。点击《光谱实验室》即可查阅有关内容。

论文一般在发表两个月之后, 上网才能检索到。