

多糖酯化反应

Esterification of Polysaccharides

T. 海因策 (T. Heinze)

[德] T. 利贝尔特 (T. Liebert) 著

A. 科舍拉 (A. Koschella)

尹学琼 林强 译



化学工业出版社

Springer 高分子科学实验丛书

多糖酯化反应

Esterification of Polysaccharides

T. 海因策 (T. Heinze)

[德] T. 利贝尔特 (T. Liebert) 著

A. 科舍拉 (A. Koschella)

尹学琼 林强 译



化学工业出版社

· 北京 ·

	飞行时间质谱
Manp	甘露吡喃糖
MeGA	4-O-甲基- α -D-葡萄糖吡喃糖醛酸
MEK	甲基乙基酮
MesCl	甲基磺酰氯
Methyl triflate	三氟甲基磺酰甲酯
m. p.	熔点
M_w	平均分子质量
MS	质谱
Na dimsyl	甲基亚磺酸钠
NBS	N-溴代丁二酰亚胺
n. d.	未测量
NIR	近红外光谱法
Nitren	氢氧化镍 [三(2-氨基乙基)胺]
NMMO	N-甲基吗啉-N-氧化物
NMP	N-甲基-2-吡咯烷酮
NMR	核磁共振
NOE	奥氏核效应
NOESY	奥氏核效应谱
PAHBA	对羟基苯甲酰肼
PP	4-吡咯烷基吡啶
Py	吡啶
RI	折射率

RT	室温
RU	重复单元
SEC	尺寸排除色谱法或凝胶渗透色谱法
S_N	亲核取代反应
TBA	三丁基铵
TBAF	四丁基氟化铵·三水合物
TBDMS	叔丁基二甲基硅基
TDMS	(2,3-二甲基-2-丁基)二甲基硅基
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
TFAA	三氟乙酸酐
T_g	玻璃态转化温度
THF	四氢呋喃
TMA	三甲胺
TMS	三甲基硅烷
TOCSY	总相关谱
TosCl	对甲苯磺酰氯
TosOH	对甲苯磺酸
Trityl	三苯基甲基
UV/Vis	紫外可见分光光度法
Xylp	吡喃木糖

符号与缩略语

[C ₄ mim] ⁺ Br ⁻	1-N-丁基-3-甲基咪唑溴化物
[C ₄ mim] ⁺ Cl ⁻	1-N-丁基-3-甲基咪唑氯化物
[C ₄ mim] ⁺ SCN ⁻	1-N-丁基-3-甲基咪唑硫氰酸盐
Ac	乙酰基
AFM	原子力显微镜
AGU	葡萄糖残基
AMIMCl	1-N-烯丙基-3-甲基咪唑氯化物
APS	氨基丙基硅胶
Araf	α -L-阿拉伯呋喃糖
Arap	阿拉伯吡喃糖
ATR	衰减全反射红外光谱
AX	阿拉伯木聚糖
AXU	木糖残基
Bu	丁基
Cadoxen	氢氧化镉乙二胺
CDI	N, N'-羰基二咪唑
CI-MS	化学电离质谱
COSY	相关色谱
CTFA	纤维素三氟乙酸酯
Cuen	氢氧化铜乙二胺
DB	支化度
DCC	N, N'-二环己基碳二亚胺
DDA	脱乙酰度
DEPT	无畸变极化转移增强技术
DMAc	N,N-二甲基乙酰胺
DMAP	4-N,N-二甲基氨基吡啶

DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMI	1,3-二甲基-2-咪唑啉酮
DMSO	二甲基亚砷
DP	聚合度
DS	取代度
DQF	双量子滤波
EI-MS	电子轰击质谱
FAB-MS	快原子轰击电离质谱
FACl	脂肪酸酰氯
FTIR	傅里叶变换红外光谱
GA	α -D-吡喃葡萄糖醛酸
GalNAc	N-乙酰-D-氨基半乳糖
Galp	半乳吡喃糖
GalpN	氨基半乳吡喃糖
GalpNAc	N-乙酰氨基半乳吡喃糖
GLC	气液色谱法
GLC-MS	气液色谱-质谱联用仪
GlcN	D-氨基葡萄糖
GlcNAc	N-乙酰-D-氨基葡萄糖
GlcA	葡萄糖醛酸
Glep	吡喃葡萄糖
GPC	凝胶渗透色谱
GX	4-O-葡萄糖醛酸木聚糖
HMBC	异核多键相干谱
HMPA	六甲基磷酰三胺
HMQC	异核多量子相干谱
HPLC	高效液相色谱
HSQC	异核单量子相关谱
Ic	结晶度指数
INAPT	非灵敏核极化转移增加法
Maldi-TOF	基质辅助激光解析电离

	飞行时间质谱
Manp	甘露吡喃糖
MeGA	4-O-甲基- α -D-葡萄糖吡喃糖醛酸
MEK	甲基乙基酮
MesCl	甲基磺酰氯
Methyl triflate	三氟甲基磺酰甲酯
m. p.	熔点
M_w	平均分子质量
MS	质谱
Na dimsyl	甲基亚磺酸钠
NBS	N-溴代丁二酰亚胺
n. d.	未测量
NIR	近红外光谱法
Nitren	氢氧化镍 [三(2-氨基乙基)胺]
NMMO	N-甲基吗啉-N-氧化物
NMP	N-甲基-2-吡咯烷酮
NMR	核磁共振
NOE	奥氏核效应
NOESY	奥氏核效应谱
PAHBA	对羟基苯甲酰肼
PP	4-吡咯烷基吡啶
Py	吡啶
RI	折射率

RT	室温
RU	重复单元
SEC	尺寸排除色谱法或凝胶渗透色谱法
S_N	亲核取代反应
TBA	三丁基铵
TBAF	四丁基氟化铵·三水合物
TBDMS	叔丁基二甲基硅基
TDMS	(2,3-二甲基-2-丁基)二甲基硅基
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
TFAA	三氟乙酸酐
T_g	玻璃态转化温度
THF	四氢呋喃
TMA	三甲胺
TMS	三甲基硅烷
TOCSY	总相关谱
TosCl	对甲苯磺酰氯
TosOH	对甲苯磺酸
Trityl	三苯基甲基
UV/Vis	紫外可见分光光度法
Xylp	吡喃木糖

本书是 Springer 出版社出版的高分子科学实验丛书之一, 全书从方法实际可行的角度出发, 向读者介绍多糖酯化反应的相关知识, 设计新颖、内容丰富。全书共 12 章, 内容涉及多糖酯的经典合成路线、有效的结构表征方法、合成新型多糖酯的新技术、多糖酯的结构-性能关系, 以及多糖酯的应用发展趋势等, 并全面归纳了不同多糖酯化反应的具体实验操作方法, 极具可操作性。

本书适合化学化工、轻工、材料、食品、生物等相关专业的研究人员和技术人员使用, 也可作为相关专业研究生、本科生的教学参考用书。

图书在版编目 (CIP) 数据

多糖酯化反应/[德]海因策(Heinze, T.), [德]利贝尔(Liebert, T.), [德]科舍拉(Koschella, A.) 著; 尹学琼, 林强译. —北京: 化学工业出版社, 2008. 12

(Springer 高分子科学实验丛书)

书名原文: Esterification of Polysaccharides

ISBN 978-7-122-03749-7

I. 多… II. ①海…②利…③科…④尹…⑤林… III. 多糖-酯化 IV. Q539

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 147127 号

Esterification of Polysaccharides /by T. Heinze, T. Liebert, A. Koschella

ISBN 978-3-540-32103-3

Copyright © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006. Springer is a part of Springer Science+Business Media. All rights reserved. Authorized translation from the English language edition published by Springer-Verlag.

本书中文简体字版由 Springer-Verlag. 授权化学工业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分, 违者必究。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2009-0722

责任编辑: 路金辉 傅聪智

文字编辑: 糜家铃

责任校对: 郑捷

装帧设计: 关飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印刷: 北京市振南印刷有限责任公司

装订: 三河市宇新装订厂

720mm×1000mm 1/16 印张 12¼ 字数 262 千字 2009 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686)

售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 39.00 元

版权所有 违者必究

前言

近年全球对可再生和可持续利用资源的关注已经引发了许多独特而有突破性的研究工作。多糖具有广泛的应用空间，是目前最重要的可再生资源。从化学家的视角看，多糖特殊的化学结构和许多优异的性能，如亲水性、生物相容性、生物可降解性（至少在天然状态时）、立体规整性、多手性中心和多官能性[也就是活性官能团（主要有一OH，—NH 和—COOH）可通过多种化学反应得以改性]，是人类把多糖作为未来一种珍贵的可再生资源研究的又一重要原因。

多糖化学改性是开发新产品和新材料最重要的途径之一，本书的目的在于向读者介绍多糖酯化反应，其中涉及典型合成路线、有效的结构表征方法、新型多糖酯类物质以及多糖酯结构性能关系，作者还就新的应用领域阐述了自己的观点。

本书的内容主要源于作者在 Bergische Universität of Wuppertal 和 Friedrich Schiller University of Jena 工作期间获得的多糖研究成果，与 D. Klemm 教授间的合作是作者对多糖这一神奇领域保持研究活力的动力源泉。此外，工业界对多糖的兴趣也与日俱增，Jena-Rudolstadt 多糖研究精英中心的成立充分证明了这一点，该中心旨在促进多糖相关交叉学科的基础研究和应用研究，并通过碳水化合物化学、生物有机化学和结构分析等领域的研究生科研项目来促进多糖相关学科的人才培养。

作者想强调的是，本书的出版不代表一种结束，恰恰相反，作者期望本书提供的多糖酯的相关信息能鼓舞科学家在科学和工业领域继续探寻开发新方法、新产品，拓展多糖的新应用领域。作者希望，本书中有关多糖酯的信息对该领域的专家和入门者都能有很好的帮助。

在本书的撰写过程中，得到了 Heinze 实验室广大成员的帮助，我们对 Wolfgang Günther 博士在 NMR 谱图采集，Matilde Vieira Nagel 博士在表格制作、校对中所做的工作，以及 Stephanie Hornig、Claudia Hänsch、Constance IBbrücker 和 Sarah Köhler 所给予的技术协助，表示感谢！在此，要特别感谢 Hamburg 大学的 Werner-Michael Kulicke 教授，是他鼓励我们向 Springer 高分子科学实验系列丛书建议添加相关合成内容！感谢 Stan Fowler 博士对书稿的校对工作！

对 Springer 出版社同意将本书作为 Springer 高分子科学实验丛书之一出版，作者深表谢意！我们感谢 Springer 出版社 Marion Hertel 博士恪尽职守的工作！

Thomas Heinze

Tim Liebert

Andreas Koschella

2006 年 2 月于 Jena

译 序

植物、微生物、真菌、海洋生物和动物等有机体均可大量合成多糖，天然多糖具有可再生性、丰富的结构多样性和多功能性、生物相容性、生物可降解性等优异的结构性能，目前多糖已在材料、医药、生命、食品、轻工业等众多领域获得了广泛的关注，多糖产品也已深入到人类生活的各个角落。多糖酯（纤维素酯和淀粉酯）是最早商业化应用的高聚物之一，也是目前产量最多、应用范围最广的多糖产品，多糖酯的制备方法和技术也一直是科学和工业领域研究角逐的热点。

Thomas Heinze 研究组长期从事多糖化学改性研究，积累了丰富的多糖改性研究经验和丰硕的研究成果，Thomas Heinze、Tim Liebert 和 Andreas Koschella 将他们的研究成果汇集成书，于 2006 年完成了这本全面介绍多糖酯化反应知识的著作。译者于 2007~2008 年在 Heinze 课题组从事博士后工作时，得到 Heinze 教授及其他两位作者的支持和帮助，开展了本书的翻译工作。译者希望将该书介绍给国内从事多糖相关研究的学术界及工业界的科研和技术人员，让大家对多糖酯化反应的相关知识有更全面的了解，也希望大家能发掘更多更新的研究思路，促使我国的多糖研究更加蓬勃地发展。

本书是 Springer 高分子科学实验丛书之一，全书从方法实际可行的角度出发，向读者介绍多糖酯化反应的相关知识，设计新颖、内容丰富。全书共 12 章，内容涉及多糖酯的经典合成路线、有效的结构表征方法、合成新型多糖酯的新技术、多糖酯的结构-性能关系以及多糖酯的应用发展趋势等，并全面归纳了不同多糖酯化反应的具体实验操作方法，极具可操作性，适合化学化工、轻工、材料、食品、生物等相关专业的研究人员和技术人员使用，也可作为相关专业研究生、本科生的教学参考用书。

本书的出版得到了教育部热带生物资源重点实验室的资助，译者对此表示衷心的感谢！

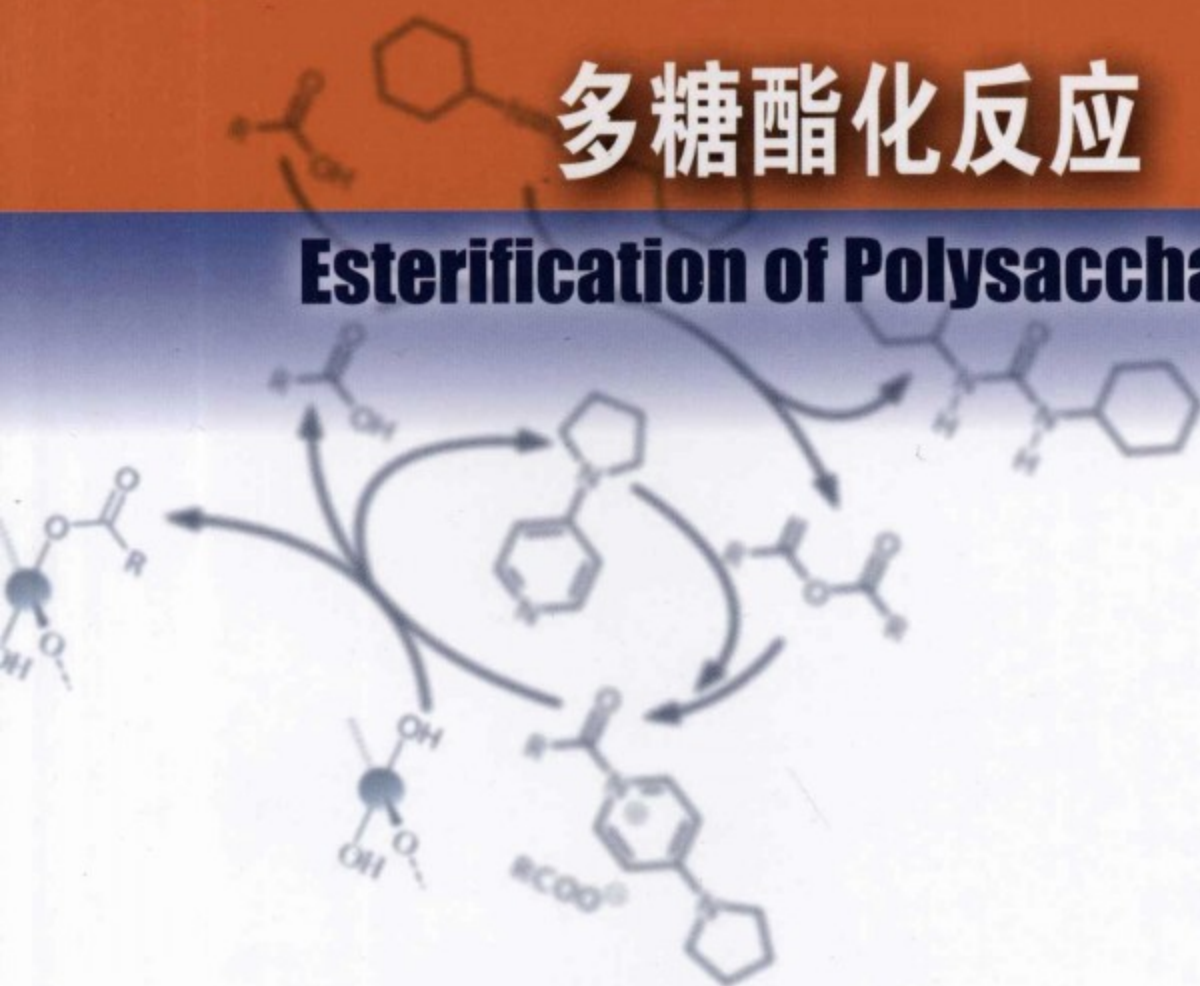
本书第 1~9 章由尹学琼副教授翻译，第 10~12 章由林强教授翻译。译者在翻译过程中力求忠实于原著，但由于译者水平所限，译文中难免会有不当之处，敬请同行及读者们给予批评指正。

译 者

2008 年 8 月

多糖酯化反应

Esterification of Polysaccharides



新华书店

销售分类建议：化学 / 应用化学
定价：39.00 元

ISBN 978-7-122-03749-7



9 787122 037497 >

目 录

1	前言和目标	1
2	多糖结构	4
2.1	结构特征	4
2.1.1	纤维素	4
2.1.2	β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡聚糖	5
2.1.3	右旋糖苷	6
2.1.4	普鲁兰	6
2.1.5	淀粉	8
2.1.6	半纤维素	8
2.1.7	瓜尔胶	8
2.1.8	菊粉	10
2.1.9	甲壳素和壳聚糖	10
2.1.10	海藻酸盐	11
3	多糖结构分析	13
3.1	光谱法	14
3.2	NMR 光谱法	15
3.2.1	^{13}C NMR 光谱法	16
3.2.2	^1H NMR 光谱法	22
3.2.3	二维 NMR 技术	27
3.2.4	色谱法和质谱法	29
4	羧酸酯——传统方法	33
4.1	羧酐氯和羧酸酐的酰基化反应	33
4.1.1	非均相酰基化反应——工业途径	33
4.1.2	碱存在下的非均相反应	36
5	有机酯基导入新方法	42
5.1	均相反应介质	42
5.1.1	水相介质	43
5.1.2	非水相溶剂	45
5.1.3	多组分溶剂	50
5.1.4	可溶性多糖中间体	55
5.2	羧酸原位活化法	59
5.2.1	磺酰氯	59
5.2.2	碳二酰亚胺	65
5.2.3	N,N' -羰基二咪唑 (CDI)	70

5.2.4 氯化亚胺	83
5.3 其他多糖酯化新方法	85
5.3.1 酯交换法	85
5.3.2 通过开环反应的酯化反应	90
6 磺酸酯	95
6.1 甲磺酸酯	96
6.2 苯甲磺酸酯	97
6.3 其他磺酸酯	104
7 多糖无机酸酯	105
7.1 硫酸半酯	106
7.2 磷酸酯	111
7.3 硝酸酯	113
8 多糖酯的结构分析	116
8.1 化学分析法——标准方法	117
8.2 光谱法	118
8.3 NMR 法	120
8.4 后续改性	125
8.4.1 NMR 法分析完全改性的衍生物	125
8.4.2 色谱技术	131
9 具有设计取代方式的多糖酯	135
9.1 选择性脱酰基化反应	136
9.2 基团保护技术	137
9.2.1 三苯甲基化保护技术	138
9.2.2 大的有机硅烷保护技术	141
9.3 介质控制的选择性	143
10 应用新示例	145
10.1 选择性分离材料	147
10.1.1 色谱固定相	147
10.1.2 选择性膜	147
10.2 生物活性	149
10.3 载体材料	150
10.3.1 多糖基前体药物	150
10.3.2 纳米粒子和水凝胶	151
10.3.3 血浆替代品	153
11 展望	155
12 实验方案	157
参考文献	173

1 前言和目标

多糖是一类具有丰富结构多样性的特殊生物高分子，众多有机体如植物、动物、真菌、海藻和微生物，可通过生物途径大量合成多糖。在生物体内，多糖以贮能高分子存在，或通过不同方式的超分子作用，形成组织结构大分子；此外，多糖作为某些生物转化识别（如活性和选择性）过程中的关键物质，已越来越深入地被人们所认识。天然多糖已具有许多优异性能，但是，化学改性可以进一步改善多糖的诸多性能，甚至获得具有特定结构的功能新材料。

多糖醚化和酯化反应是最具多样性的多糖改性方法，因为通过醚化和酯化改性，可以很容易地获得各种性能优异的具有生物来源的新材料。特别要说明的是，本书从可行性出发介绍了一些最新的酯化方法，采用这些方法，可以获得具有丰富结构信息的多糖衍生物谱图，但是，这些酯化方法目前仍仅限于实验室规模；与此相反，针对含量最丰富的纤维素和淀粉的简单酯化方法，已可用于工业化生产。作者希望综述多糖酯化反应的经典方法，如大规模生产的纤维素 $C_2 \sim C_4$ 羧酸酯（包括邻苯二甲酸和纤维素硝酸酯的混合衍生物）的制备方法，多糖酯化的这些工业化反应均是在非均相条件下进行的，至少在反应初始阶段是非均相的，但是，在纤维素醋酸酯（大约 90 万吨/年）的大部分生产过程中，均存在产物溶解环节^[1~3]。

以下领域的研究和进展为多糖酯化改性提供了新的发展契机：

- 新的化学试剂（开环反应、酯转化反应），酶催化酰基化反应和羧酸原位活化反应；
- 均相反应途径，即从已溶多糖和新的反应介质开始反应；
- 借助基团保护-去保护技术的选择性酯化反应，多糖高级结构研究方法以及酶催化酯化反应。

包括样品制备技术在内的 NMR 光谱技术，是分子水平上进行多糖结构表征最重要的手段。我们想强调的是，也如在多糖研究中（见图 1.1）已广泛体现的，明确构效关系不但有利于发掘具有商业价值的多糖衍生物，也可能获得性能更优越、甚至具有新功能的多糖产品。

将新颖的酯化技术、全面的结构表征和明确的构效关系紧密结合，是开发多糖纳米科学与技术和多糖智能响应材料的关键，同时也是开启多糖在生物感应器、选择性分离、生物工程和医药等领域应用之门的钥匙。

本书不打算补充或替代任何现有多糖化学、特别是多糖酯化反应的相关综述文献和著作，而准备向读者介绍经典合成方法的重要特征、有效的结构表征方法、新型多糖酯以及多糖衍生物的结构性能关系，此外，作者就新的多糖应用领域阐述了自己的观点。在本书中，改性方法和结构分析多以葡聚糖为例，一方面是因为绝大

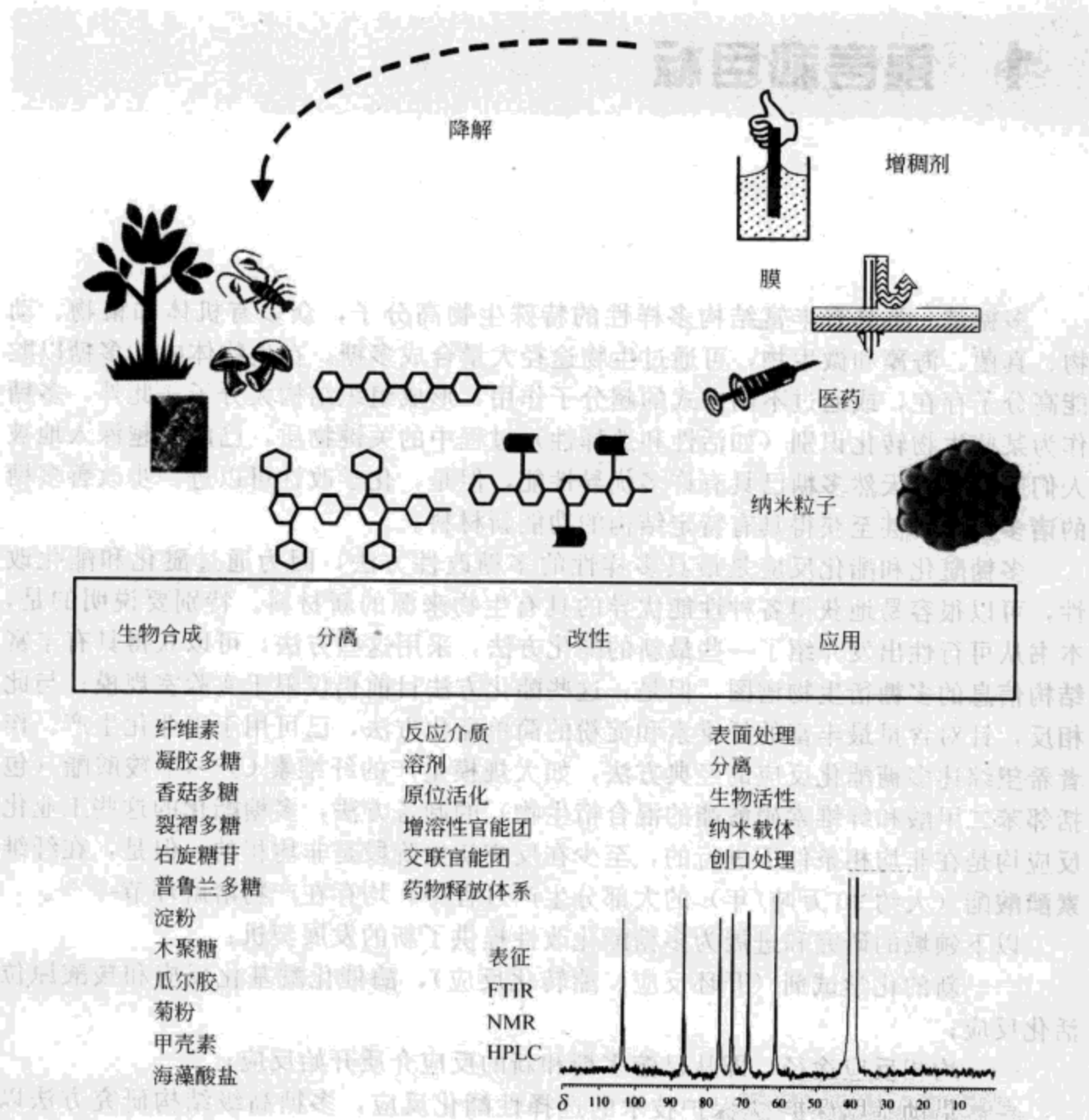


图 1.1 多糖主要研究领域

部分天然多糖为葡聚糖，另一方面是由于葡聚糖结构简单、均一^[4]。相反，对具有多种糖原和次级结构的多糖，如半乳甘露聚糖或海藻多糖，由于存在诸多不可重复性的影响因素，多糖结构呈现多样性，随海藻种类、提取部位和生长期气候不同，海藻多糖结构呈现明显差异，改性将进一步加大这种差异，因此，有关这些多糖的构效关系研究至今仍十分有限；复合多糖的结构分析和改性方法大多借鉴葡聚糖的方法，结构分析难度大，因此，本书只在一些特殊过程中才会提及复合多糖，如对海藻酸盐羧基团的酯化反应^[5]。对于众多的复合多糖，我们会对其中最重要的半乳甘露聚糖瓜尔胶、海藻多糖海藻酸盐、氨基葡聚糖甲壳素、半纤维素木聚糖和果聚糖菊粉，加以介绍，以便读者更好地了解复合多糖的特异性。

尽管通过化学（开环聚合）和酶催化反应，最近在实验室里已合成了多糖和多

2 多糖结构

2.1 结构特征

多糖广泛存在于植物、微生物、真菌、海洋生物和动物等有机体中，天然多糖种类繁多，具有丰富的结构多样性和多功能性。根据化学结构不同，本书对常用于同型聚合物反应的多糖进行了归纳，如表 2.1 所示，其中包括葡聚糖 (glucan, 1~8)，果聚糖 (fructan, 11)，脱氧氨基葡聚糖 (aminodeoxyglucan, 12~13)，以及含糖醛酸 (uronic acid) 单元的多糖 (14)。

表 2.1 不同来源多糖的结构

多糖类型	序号	来源	结 构	参考文献
纤维素	1	植物	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-葡萄糖	[6]
凝胶多糖	2	细菌	β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-葡萄糖	[7]
小核菌葡聚糖	3	真菌	β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-葡萄糖主链 β -(1 $\rightarrow$ 6)-D-葡萄糖支链	[8]
裂褶多糖	4	真菌	β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-葡萄糖主链， D-葡萄糖支链	[9,10]
右旋糖苷	5	细菌	α -(1 $\rightarrow$ 6)-D-葡萄糖主链	[11]
普鲁兰	6	真菌	α -(1 $\rightarrow$ 6)连接麦芽三糖	[12]
淀粉		植物		[13]
直链淀粉	7		α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-葡萄糖	
支链淀粉	8		α -(1 $\rightarrow$ 4)-和 α -(1 $\rightarrow$ 6)-D-葡萄糖	
木聚糖	9	植物	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-木糖主链	[14]
瓜尔胶	10	植物	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-甘露糖主链， D-半乳糖支链	[15]
菊粉	11	植物	β -(1 $\rightarrow$ 2)-呋喃果糖	[16]
甲壳素	12	动物	β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-(N-乙酰)氨基葡萄糖	[17]
壳聚糖	13		β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-氨基葡萄糖	
海藻酸盐	14	海藻	α -(1 $\rightarrow$ 4)-L-古罗糖醛酸 β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-甘露糖醛酸	[18]

多糖含有易于发生酯化反应的伯羟基、仲羟基和羧基，以及可以转化为氨基化合物的一NH₂。文献 [9, 19~23] 对多糖分子、超分子和聚集态结构进行了全面综述。

2.1.1 纤维素

纤维素 (cellulose) 是由 D-吡喃葡萄糖单元 (俗称葡萄糖残基) 通过 β -(1 $\rightarrow$ 4) 糖苷键连接而成的线型均聚物 (见图 2.1)，纤维素是迄今地球上含量最丰富的有机化合物。尽管纤维素的分子结构简单、均一，纤维素却可以形成非常复杂的超分

子结构, 这些超分子结构对纤维素的性质, 如化学反应活性, 有着显著的影响。目前, 研究者已对纤维素不同层次的结构, 如分子、超分子和聚集态结构, 进行了很深入的研究^[24]。由于—OH 与链内或链间的环氧或桥氧原子形成了非常强的氢键网络, DP 30 的纤维素分子即不溶于水和普通有机溶剂。有序的氢键系统使得纤维素呈现不同的超分子半晶体结构, 氢键对纤维素的所有化学行为都具有极强的影响^[25,26]。

为了溶解纤维素, 人们已尝试了很多不同的复合溶剂, 其中许多溶剂已应用到多糖的酯化反应中, 如: DMAc/LiCl 和 DMSO/TBAF。图 2.1^[27]是纤维素在 DMSO-*d*₆/TBAF 中的¹³C NMR 谱图, 图中对 6 个碳原子峰进行了指认。

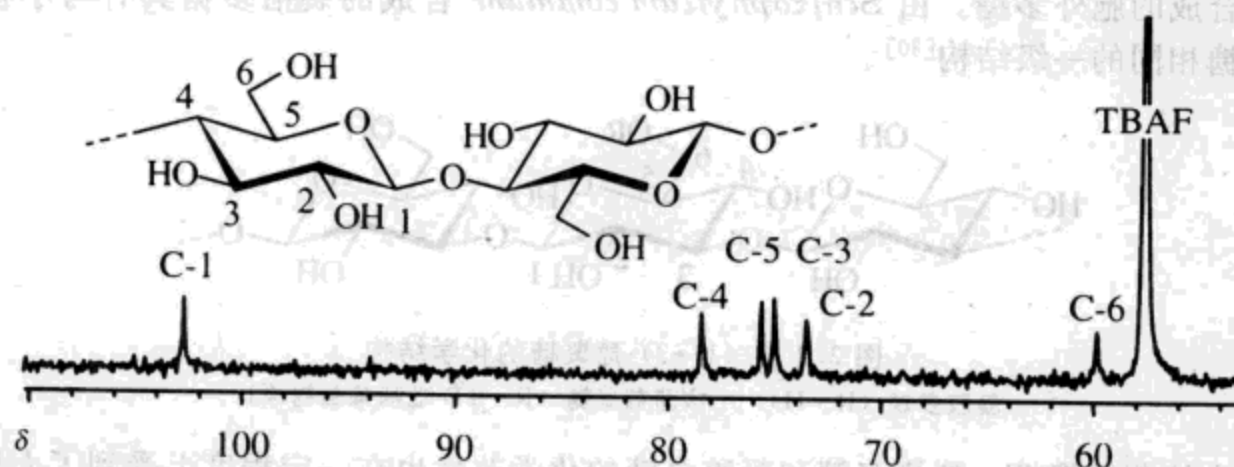


图 2.1 纤维素在 DMSO-*d*₆/TBAF 中的¹³C NMR 谱图^[27]

2, 3 和 6 位碳原子所带羟基可以进行伯羟基、仲羟基的常规化学反应。采用不同原材料和预处理方法, 可以得到不同 DP 的纤维素, 天然棉 DP 值可达 12000, 而磨洗或漂洗后的棉绒 DP 约 800~1800, 木浆 (溶解的纸浆) 约 600~1200。

表 2.2 给出了几个 DP 值差异明显的产品, 这些产品可用于化学改性。另一种实验室规模制备纯纤维素的方法是醋酸杆菌 (*Acetobacter xylinum*) 和卡氏棘阿米巴菌 (*Acanthamoeba castellanii*) 生物合成法^[28], 但所得纤维素的分离纯化困难。

表 2.2 商业纤维素的组成、DP 和结晶度

样品	厂商	糖原/%			DP	结晶度 /%
		葡萄糖	甘露糖	木糖		
Avicel	Fluka	100.0	—	—	280	61
Sulphate pulp V-60	Buckeye	95.3	1.6	3.1	800	54
Sulphate pulp A-6	Buckeye	96.0	1.8	2.2	2000	52
Sulphite pulp 5-V-5	Borregaard	95.5	2.0	2.5	800	54
Linters	Buckeye	100	—	—	1470	63

2.1.2 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡聚糖

含 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡聚糖 (glucan) 结构的多糖具有明显的结构差异。 β -(1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 6) 连接的葡聚糖具有刺激和增加人体免疫系统的功能。

尽管凝胶多糖 (curdlan) 存在于真菌、酵母、海藻、细菌和高级植物等不同有机体中, 但是, 到目前为止, 据文献报道, 只有 *Alcaligenes* 和 *Agrobacterium* 属细菌可生产线性均聚多糖。化学分析和酶法分析表明, 细菌 (包括 *Alcaligenes faecalis* 和 *Agrobacterium biovar*) 生产的凝胶多糖为 β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-葡萄糖的均聚物 (见图 2.2^[29]), 这种 β -葡聚糖没有分支, DP 约 450, 可溶于 DMSO 和稀 NaOH 溶液。日本每年生产大约 700t 凝胶多糖。

小核菌葡聚糖 (scleroglucan) 是一种中性均多糖, 由 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡萄糖线性连接, 每三个主链重复单元具有一个 β -(1 $\rightarrow$ 6)-葡萄糖侧链 (见图 2.2^[8]), 该多糖可溶于水和 DMSO。小核菌葡聚糖是由 *Sclerotium gluconicum* 和其他 *Sclerotium* 类细菌合成的胞外多糖。由 *Schizophyllum commune* 合成的裂褶多糖具有与小核菌葡聚糖相同的一级结构^[30]。

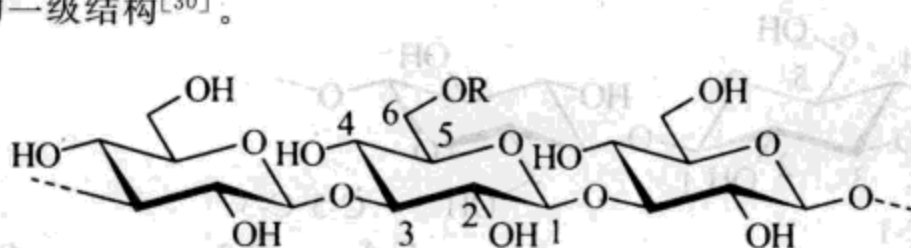


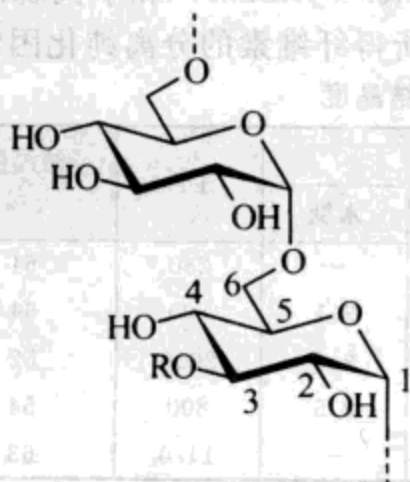
图 2.2 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡聚糖的化学结构

凝胶多糖 (R=H), 小核菌葡聚糖 (R= β -D-吡喃葡萄糖原)

小核菌葡聚糖、裂褶多糖和凝胶多糖的化学改性也在一定程度上受到了人们的关注。

2.1.3 右旋糖苷

右旋糖苷 (dextran) 是一类可由多种细菌 (*Leuconostoc* 和 *Streptococcus*) 制备的中性多糖, 其主链为 α -(1 $\rightarrow$ 6)-葡聚糖, 但不同细菌生产的右旋糖苷的糖苷键连接方式和分支的比例不同, α -(1 $\rightarrow$ 6) 连接可占总糖苷键的 97%~50%, 其余为



以支链形式连接的 α -(1 $\rightarrow$ 2)、 α -(1 $\rightarrow$ 3) 和 α -(1 $\rightarrow$ 6)^[31]。 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F 是唯一已商业应用的菌株, 其生产的胞外右旋糖苷主要为 α -(1 $\rightarrow$ 6)-葡聚糖, 同时带有含量很低的 (约 5%)、随机分布的 α -(1 $\rightarrow$ 3) 支链, 结构如图 2.3^[32] 所示, 大部分侧链带一或两个葡萄糖单元, 这类右旋糖苷一般可溶于水和溶剂 (甲酰胺、丙三醇)。每年全球不同企业生产的右旋糖苷共约 2000t^[33]。

2.1.4 普鲁兰

图 2.3 右旋糖苷的结构

[自 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F

生产, R 主要为 H 和 5% 葡萄糖或 α -(1 $\rightarrow$ 6) 连接吡喃葡萄糖基- α -D-吡喃葡萄糖]

普鲁兰 (pullulan) 是一种由多态真菌 *reobasidium pullulans* 的某些菌株生产的水溶性中性胞外多糖, 目前普遍认为, 普鲁兰是由麦芽

三糖通过 α -(1 $\rightarrow$ 6) 连接而成的线型高分子^[12,34], 麦芽三糖为 α -(1 $\rightarrow$ 4) 相连的 D-葡萄糖 (见图 2.4)。因此, 普鲁兰分子包含了直链淀粉的 α -(1 $\rightarrow$ 4)-葡聚糖和右旋糖苷的 α -(1 $\rightarrow$ 6)-葡聚糖两种片段, 其结构介于直链淀粉和右旋糖苷之间。

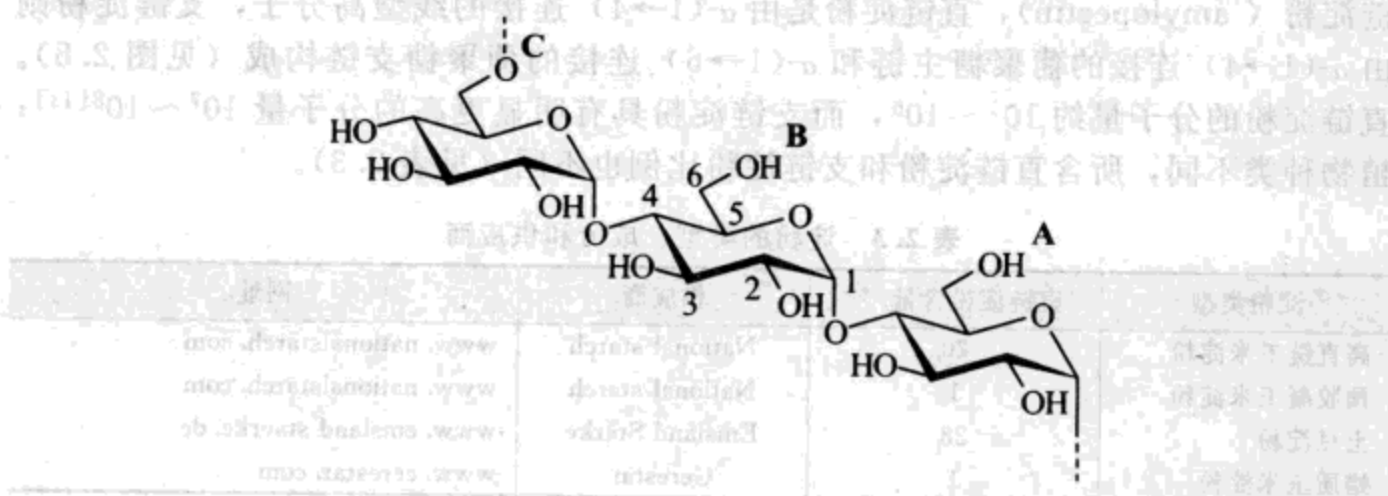


图 2.4 普鲁兰的结构

普鲁兰多糖分子在 2、3、4 位上有反应活性不同的羟基 (见图 2.4), 以 D_2O 或 $DMSO-d_6$ 为溶剂, 对普鲁兰分子进行 ^{13}C 和 1H 的 NMR 分析^[35], 发现 α -(1 $\rightarrow$ 6) 相连的重复单元比 α -(1 $\rightarrow$ 4) 相连的重复单元具有更大的运动自由度, 这种结构可能会影响化学改性的改性方式, 尤其是稀溶液中的均相反应。

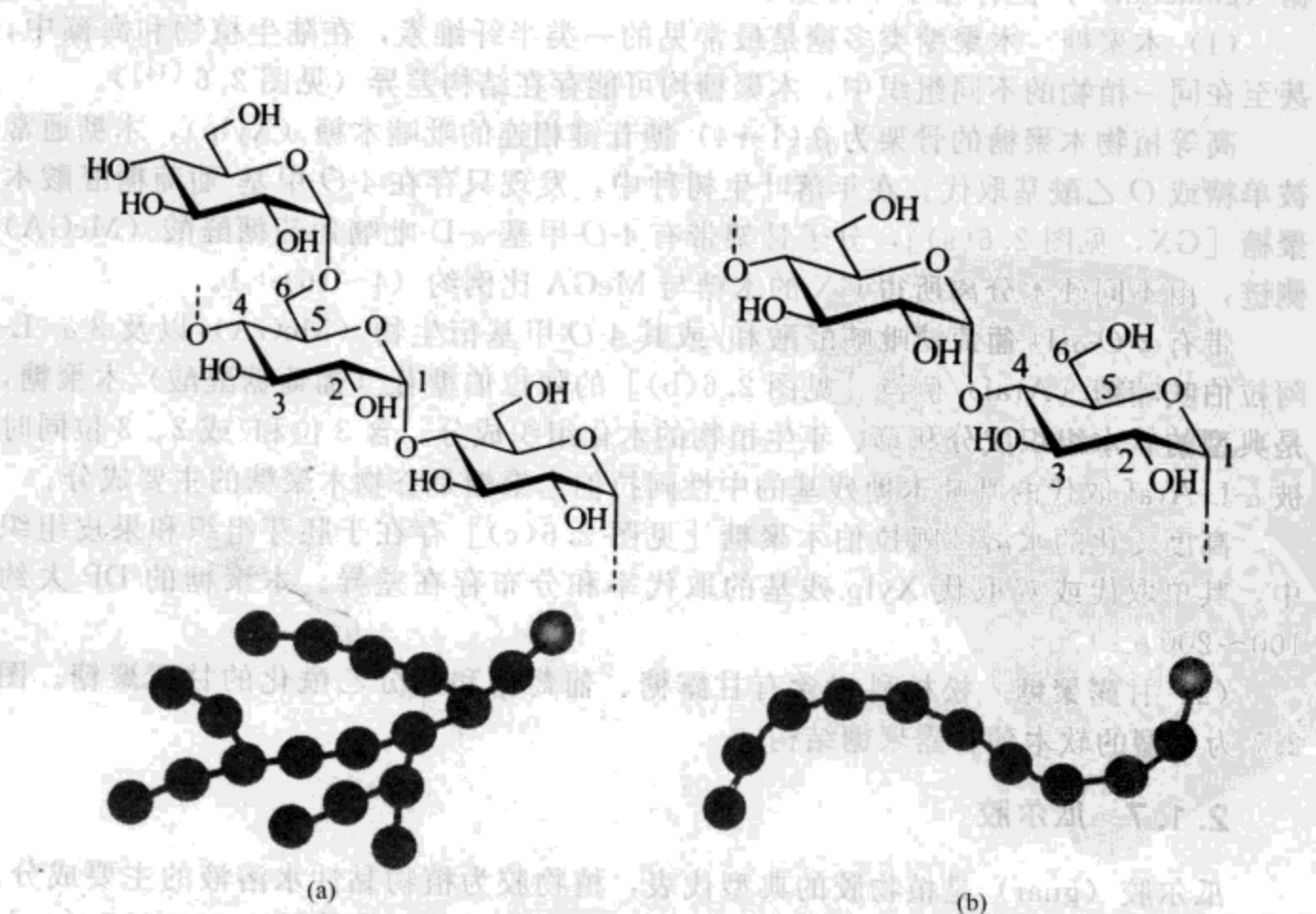


图 2.5 支链淀粉 (a) 和直链淀粉 (b) 的结构及支化方式

2.1.5 淀粉

淀粉 (starch) 由两类含 D-葡萄糖的聚合物组成: 直链淀粉 (amylose) 和支链淀粉 (amylopectin), 直链淀粉是由 α -(1 $\rightarrow$ 4) 连接的线型高分子, 支链淀粉则由 α -(1 $\rightarrow$ 4) 连接的葡聚糖主链和 α -(1 $\rightarrow$ 6) 连接的葡聚糖支链构成 (见图 2.5)。直链淀粉的分子量约 $10^5 \sim 10^6$, 而支链淀粉具有明显更高的分子量 $10^7 \sim 10^8$ ^[13]; 植物种类不同, 所含直链淀粉和支链淀粉比例也不同 (见表 2.3)。

表 2.3 淀粉的类型、成分和供应商

淀粉类型	直链淀粉含量/%	供应商	网址
高直链玉米淀粉	70	National starch	www.nationalstarch.com
预胶凝玉米淀粉	1	National starch	www.nationalstarch.com
土豆淀粉	28	Emsland Stärke	www.emsland-staerke.de
蜡质玉米淀粉	1	Cerestar	www.cerestar.com

2.1.6 半纤维素

半纤维素 (hemicellulose) 占年生植物或常青植物总体积的 20%~30%, 是世界上含量最丰富的多糖之一。根据经典定义, 半纤维素是可由碱液提取的细胞壁多糖, 半纤维素存在多种结构, 其中木聚糖 (xylan)、甘露聚糖 (mannan)、半乳聚糖 (galactan) 广泛存在于木材里。

(1) 木聚糖 木聚糖类多糖是最常见的一类半纤维素, 在陆生植物和海藻中, 甚至在同一植物的不同组织中, 木聚糖均可能存在结构差异 (见图 2.6^[14])。

高等植物木聚糖的骨架为 β -(1 $\rightarrow$ 4) 糖苷键相连的吡喃木糖 (Xylp), 木糖通常被单糖或 O-乙酰基取代。在年落叶生树种中, 发现只存在 4-O-甲基-葡萄糖醛酸木聚糖 [GX, 见图 2.6(a)], 分子骨架带有 4-O-甲基- α -D-吡喃葡萄糖醛酸 (MeGA) 侧链, 由不同硬木分离所得 GX 的木糖与 MeGA 比例约 (4~16): 1。

带有 2-O- α -D-葡萄糖吡喃醛酸和/或其 4-O-甲基衍生物 (MeGA) 以及 3- α -L-阿拉伯呋喃糖 (Araf) 侧链 [见图 2.6(b)] 的阿拉伯糖苷 (葡萄糖醛酸) 木聚糖, 是典型的软木组织成分和草、年生植物的木化组织成分。含 3 位和/或 2、3 位同时被 α -L-Araf 取代的吡喃木糖残基的中性阿拉伯木聚糖是谷物木聚糖的主要成分。

高度支化的水溶性阿拉伯木聚糖 [见图 2.6(c)] 存在于胚芽组织和果皮组织中, 其单取代或双取代 Xylp 残基的取代率和分布存在差异。木聚糖的 DP 大约 100~200。

(2) 甘露聚糖 松柏科树含有甘露糖、葡萄糖和部分乙酰化的甘露聚糖。图 2.7 为典型的软木葡甘露聚糖结构。

2.1.7 瓜尔胶

瓜尔胶 (guar) 是植物胶的典型代表, 植物胶为植物黏性水溶液的主要成分。瓜尔胶多糖为种子提取物, 属于天然半乳甘露聚糖, 摩尔质量可达 2000000g/mol。在半乳甘露聚糖中, 每两个甘露糖带一个半乳糖分支, 甘露糖以 β -(1 $\rightarrow$ 4) 糖苷键

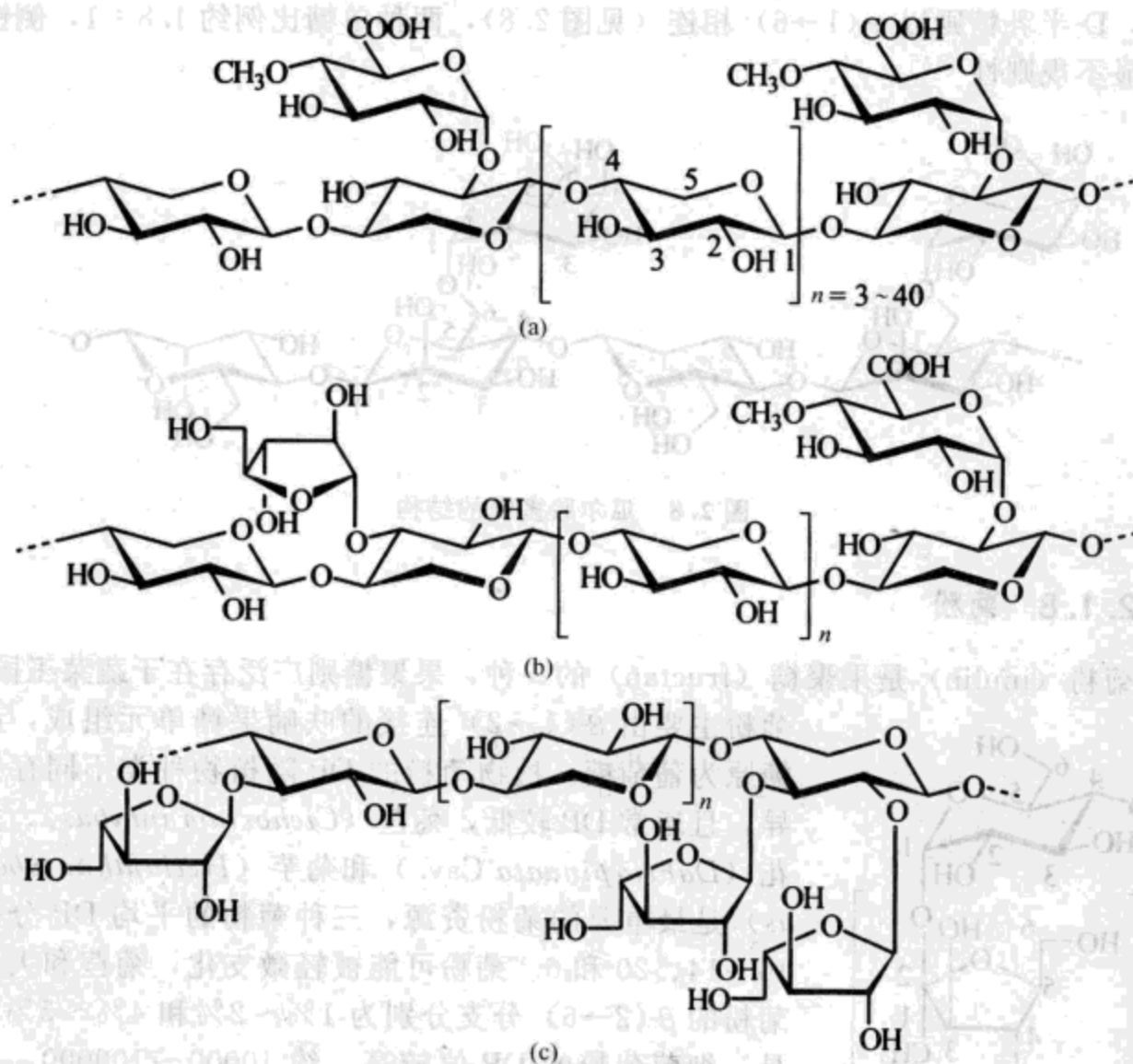


图 2.6 4-O-甲基-葡萄糖醛酸木聚糖 (a)、阿拉伯糖苷(葡萄糖醛酸)木聚糖 (b) 和阿拉伯木聚糖 (c) 的结构

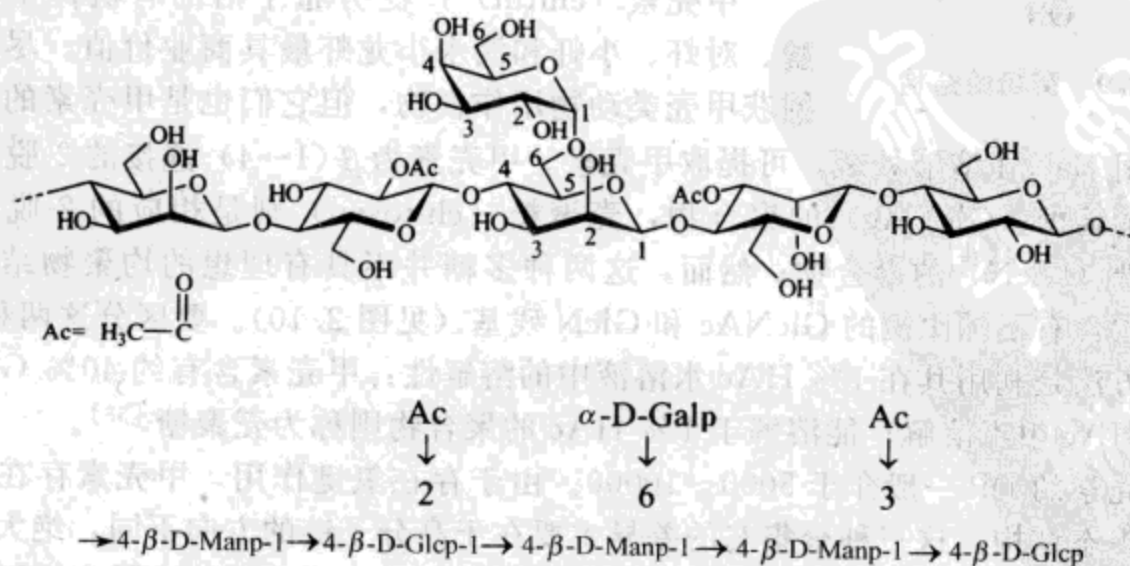


图 2.7 软木葡甘露聚糖的结构

连接, D-半乳糖则以 α -(1 $\rightarrow$ 6) 相连 (见图 2.8), 两种单糖比例约 1.8 : 1, 侧链存在明显不规则性^[15]。

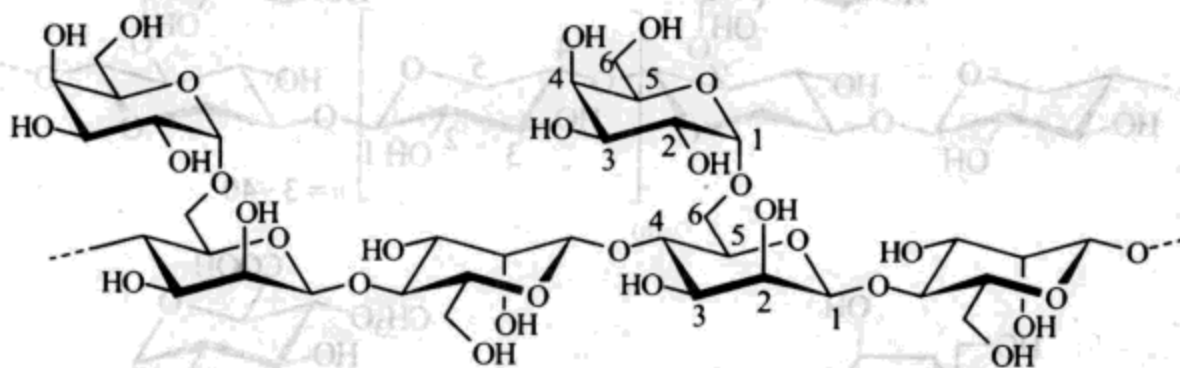


图 2.8 瓜尔胶多糖的结构

2.1.8 菊粉

菊粉 (inulin) 是果聚糖 (fructan) 的一种, 果聚糖则广泛存在于蔬菜王国中。

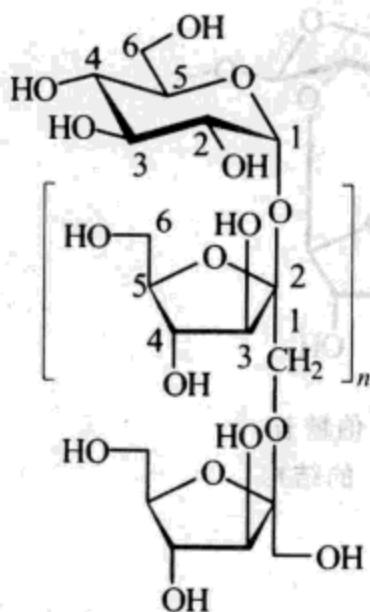


图 2.9 菊粉的结构

菊粉主要由 β -(1 $\rightarrow$ 2) 连接的呋喃果糖单元组成, 起始糖原为葡萄糖。植物菊粉的 DP 随植物种类不同存在差异, 且通常 DP 较低, 菊苣 (*Cichorium intybus*)、大丽花 (*Dahlia pinnata* Cav.) 和菊芋 (*Helianthus tuberosus*) 是最重要的菊粉资源, 三种菊粉的平均 DP 分别为 10~14、20 和 6。菊粉可能被轻微支化, 菊苣和大丽花菊粉的 β -(2 $\rightarrow$ 6) 分支分别为 1%~2% 和 4%~5%。但是, 细菌菊粉的 DP 值较高, 约 10000~100000, 且具有很高的支化度^[36,37] (见图 2.9)。

2.1.9 甲壳素和壳聚糖

甲壳素 (chitin) 广泛分布于活的有机体中, 其中蟹、对虾、小虾和淡水小龙虾最具商业价值。尽管人类捕获甲壳类动物用作食物, 但它们也是甲壳素的重要资源, 采用 NaOH 溶液处理, 可提取甲壳素。甲壳素为 β -(1 $\rightarrow$ 4) 连接的 2-脱氧-2-乙酰氨基葡萄糖 (GlcNAc) 的聚合物, 壳聚糖 (chitosan) 则是相应的 2-脱氧-2-氨基葡萄糖 (GlcN) 的聚合物; 然而, 这两种多糖并不具有理想的均聚物结构, 因为它们均含有不同比例的 GlcNAc 和 GlcN 残基 (见图 2.10)。要区分这两种多糖, 最好的方法是利用其在 1% HAc 水溶液中的溶解性: 甲壳素含有约 40% GlcNAc, 在 1% HAc 中不溶解; 能溶解于 1% HAc 的聚合物则称为壳聚糖^[38]。

甲壳素的 DP 一般介于 5000~10000。由于存在氢键作用, 甲壳素存在三种不同的聚集态结构, 这三种聚集态的差异主要在于高分子链的方向不同, 绝大多数甲壳素以热力学稳定的 α -甲壳素和亚稳的 β -甲壳素存在。全球有很多供应商可提供纯的甲壳素产品 (见表 2.4)。

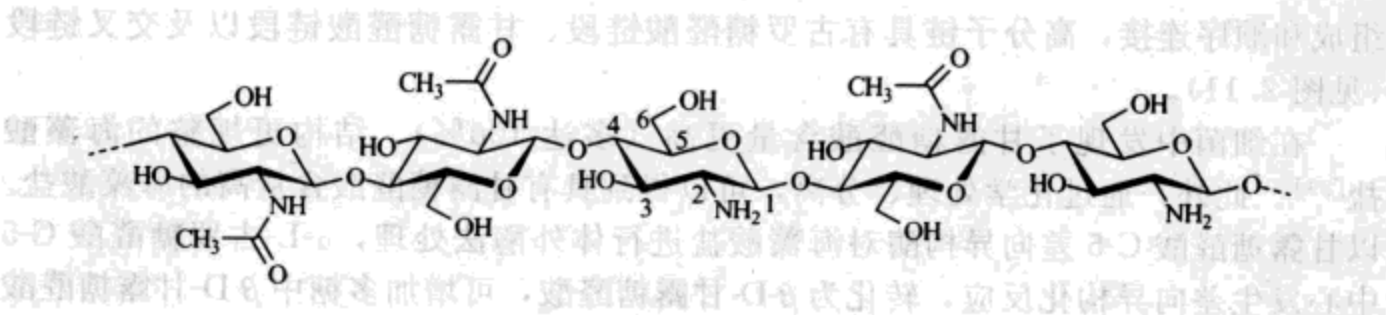


图 2.10 由 N-乙酰氨基葡萄糖和氨基葡萄糖组成的甲壳素 (DDA 40%)

表 2.4 部分甲壳素和壳聚糖供应商^[38]

公 司	网 址
Henkel KGaA, Düsseldorf, 德国	www.bioprawns.no
Genis hf, 冰岛	www.genis.is
Kate International, 日本	www.kateinternational.com
Kitto Life Co., Seoul, 韩国	www.kittolife.co.kr
Micromod GmbH, 德国	www.micromod.de
Primex Ingredients ASA, 挪威	www.primex.no
Pronova, 挪威	www.pronova.com

2.1.10 海藻酸盐

海藻酸盐 (alginate) 是一种胶凝多糖，在褐藻中含量丰富。作为无分支共聚物，海藻酸盐的一级结构差异较大，主要取决于海藻种类、季节与生长条件，*Macrocystis*、*Laminaria* 和 *Ascophyllum* 是最重要的三类商业海藻^[18]。海藻酸盐的重复单元为 α -L-古罗糖醛酸和 β -D-甘露糖醛酸，重复单元以 1→4 糖苷键按不同

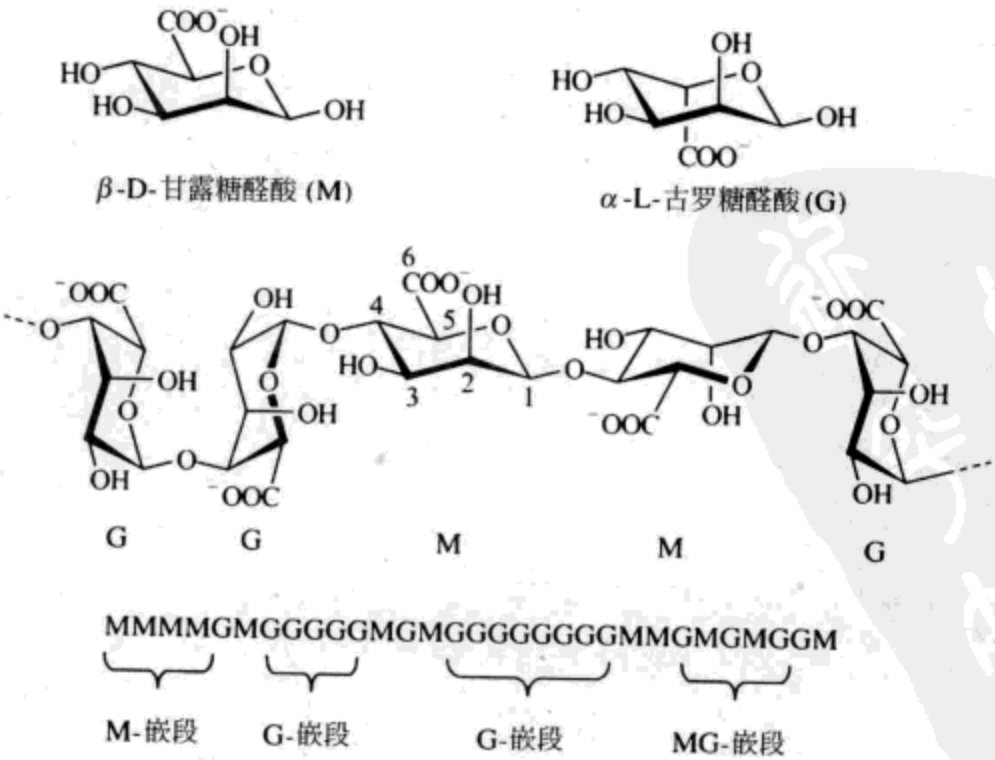


图 2.11 海藻酸盐的化学结构

组成和顺序连接，高分子链具有古罗糖醛酸链段、甘露糖醛酸链段以及交叉链段（见图 2.11）。

在细菌中发现了甘露糖醛酸含量更高（多达 100%）、结构更规整的海藻酸盐^[39]。此外，通过化学处理、分离，可以得到具有甘露糖醛酸含量高的海藻酸盐。以甘露糖醛酸 C-5 差向异构酶对海藻酸盐进行体外酶法处理， α -L-古罗糖醛酸 C-5 中心发生差向异构化反应，转化为 β -D-甘露糖醛酸，可增加多糖中 β -D-甘露糖醛酸的含量。

多糖结构受多种因素影响，如不同生产季节生产的多糖存在结构差异，因此，我们建议研究者先对所研究的多糖进行综合全面的结构分析，具体分析方法我们将在下一章进行介绍。

www.hongwan.com	1688 网商网
www.gdchina.com	广东中国网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网
www.kuaidi.com	快递网

2.1.10 海藻酸盐

海藻酸盐(alginate)是一类天然多糖，广泛存在于褐藻的细胞壁中。海藻酸盐是由甘露糖醛酸和古罗糖醛酸两种糖醛酸单元以1:3的比例交替连接而成的。海藻酸盐的分子量通常在10⁵~10⁶之间。海藻酸盐在自然界中广泛分布，是褐藻细胞壁的主要成分之一。海藻酸盐在食品工业、医药工业、纺织工业等领域有着广泛的应用。海藻酸盐的衍生物海藻酸钠、海藻酸钾等是重要的食品添加剂。海藻酸盐在医药工业中主要用于制备缓释制剂、组织工程支架等。海藻酸盐在纺织工业中主要用于制备海藻酸盐纤维。



图 2.11 海藻酸盐的重复单元

3 多糖结构分析

目前已建立了许多有效的分析方法，用于分析多糖结构、多糖与不同化合物（如溶剂或无机盐）间的相互作用、多糖在固态或溶液中的高级结构等，文献 [19] 综述了多糖高级结构的研究方法及结果，本章旨在介绍可在商业化仪器上完成的多糖一级结构的分析技术。

要了解衍生化过程中多糖骨架可能发生的所有结构变化，研究人员需在改性前尽可能全面地对多糖进行结构分析。大家应该牢记的是，不考虑脱除小分子杂质的分离纯化是没有任何意义的。虽然本书第 2 章列出了常见多糖的重复单元，但在这里我们仍建议您先对所研究的多糖原料进行结构分析，因为即使多糖类型相同，在不同样品中，多糖的化学结构，包括分支、糖原连接顺序、链中的氧化部分（如葡聚糖中的醛基、酮基和羧基）和残余的天然杂质，均可能存在差异，尤其是在真菌和植物多糖中，这些差异会明显影响多糖的性质和反应活性。

许多基础化学方法已被应用到多糖结构分析和纯度检测中，其中大部分方法是可采用紫外-可见分光光度法进行定量分析的颜色反应，部分方法如表 3.1 所示。

表 3.1 多糖结构分析中常用的化学分析方法

方法	试剂	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	可测结构	参考文献
蒽酮法	蒽酮-硫酸试剂	620	己糖、含己糖的多糖 蓝色:己糖 绿色:其他糖	[41]
Orcinol 法	3, 5-二羟基甲苯乙醇溶液, $\text{FeCl}_3\text{-HCl}$	665	戊糖、含戊糖的多糖 绿色变蓝色:戊糖导致 由绿到蓝变色	[40]
苯酚-硫酸法	苯酚和硫酸	485	所有单糖、各类多糖	[41]
间羟基联苯法	间羟基联苯的 NaOH 溶液, 硼砂硫酸溶液	520	糖醛酸、糖醛酸的多糖 (红变蓝)	[42]
半胱氨酸/硫酸法	半胱氨酸盐酸盐水溶液和 H_2SO_4	380, 396, 427	6-脱氧己糖、含 6-脱氧己糖的多糖	[40]
PAHBAH 法	PAHBAH-HCl 溶液, NaOH	410	还原糖	[43]
Updegraff 法	$\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{HNO}_3 (8:2:1)$		纤维素	[44]

此外，对于离子型聚合物，如海藻酸盐、壳聚糖盐，可采用滴定法测定聚合物官能团的含量。采用线性电位滴定法，可测定甲壳素类物质的游离氨基含量 [45]。

在对多糖进行酯化改性前，需要准确测定原料的含水量。热重分析以及在抽取水分后，进行卡尔费歇尔水分滴定分析，均可测定含水量；纤维素的最佳抽提剂是 DMF、乙腈和异丁醇 [46]。

3.1 光谱法

除了上述化学分析法中涉及的紫外-可见分光光度法,还可采用光谱法对官能团 ($\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$ 、 COOH) 含量进行半定量分析。对甲壳类材料进行控温超声波降解,将降解产物溶于 85% 磷酸,UV/Vis 测定该溶液在 210nm 的吸光度,可以获得 DDA 值^[47]。

光谱法可测定纯多糖的结构,也可以很容易监测改性过程中多糖结构的变化,FTIR 指纹图谱可提供有力的结构证据。FTIR 测试多采用 KBr 压片法,通常, KBr 压片中聚合物含量为 1%~2% (质量分数),为了获得高分辨率的图谱,必须将 KBr 与多糖均匀混合,因此,有必要采用球磨机。在 FTIR 谱图中,非多糖信号常出现在 $1630\sim 1640\text{cm}^{-1}$ 和 $2340\sim 2350\text{cm}^{-1}$ 处,分别为吸附水和 CO_2 的吸收峰。图 3.1 为四种葡聚糖(纤维素、淀粉、右旋糖苷和小核菌葡聚糖)的 FTIR 谱图,各峰归属如表 3.2。

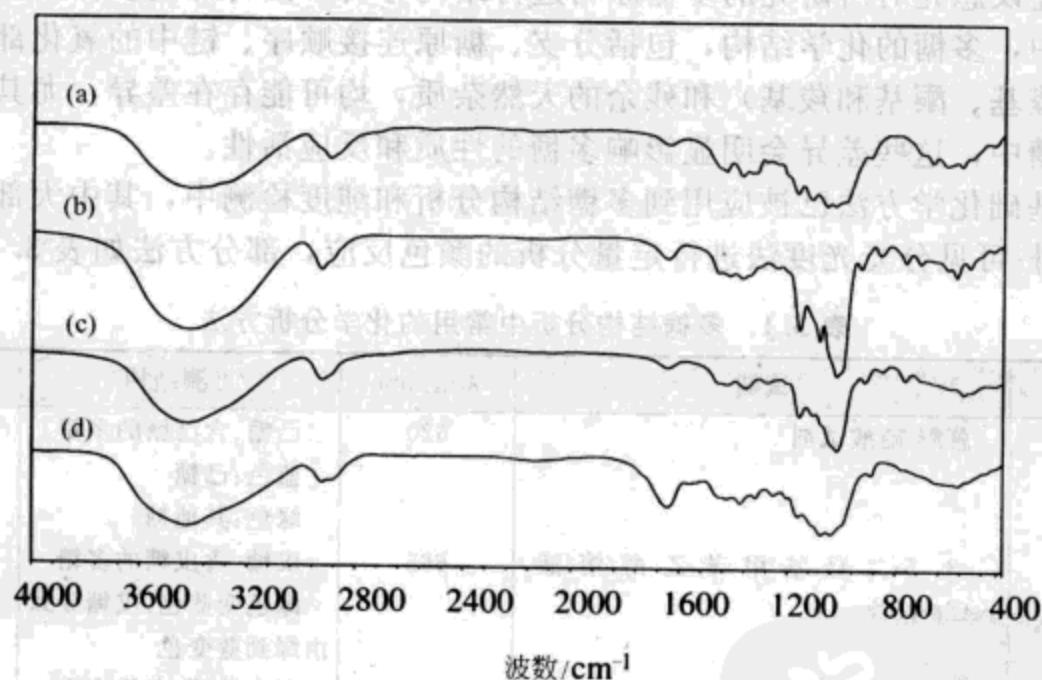


图 3.1 四种葡聚糖的 FTIR 谱图

(a) 纤维素; (b) 淀粉; (c) 右旋糖苷; (d) 小核菌葡聚糖

如果将海藻酸盐转化为酸式,羧酸盐 $\text{C}=\text{O}$ 将在 $1620\sim 1630\text{cm}^{-1}$ 和 $1410\sim 1420\text{cm}^{-1}$ 或 1730cm^{-1} 处产生吸收(见表 3.3)。比较 $\beta\text{-D}$ -甘露糖醛酸在 808cm^{-1} 和 $\alpha\text{-L}$ -古罗糖醛酸在 887cm^{-1} 的峰面积,可以半定量分析聚合物两种糖原的比例^[49]。

半乳甘露聚糖在 870cm^{-1} 和 $805\sim 820\text{cm}^{-1}$ 有特征吸收峰^[50]。采用 FTIR 法,根据甘露聚糖在 805cm^{-1} 处的特征吸收峰,可以分析酵母(如 *Saccharomyces cerevisiae*)生产的葡聚糖和甘露聚糖的组成^[51]。分析 FTIR 去卷积谱中 1736cm^{-1} 处的羧基峰,可以获得半纤维素中木聚糖的含量^[52]。

表 3.2 多糖 FTIR 峰的归属 [48]

波数/cm ⁻¹	归 属
3450~3570	OH 伸缩振动峰、OH 分子内氢键
3200~3400	OH 伸缩振动峰、OH 分子间氢键
2933~2981	CH ₂ 非对称伸缩振动峰
2850~2904	CH ₂ 对称伸缩振动峰
1725~1730	乙酰基或 COOH 的 C=O 伸缩振动峰
1635	吸附水的吸收峰
1455~1470	吡喃环内 CH ₂ 对称伸缩振动峰、OH 面内变形振动峰
1416~1430	CH ₂ 剪切振动峰
1374~1375	CH 变形振动峰
1335~1336	OH 面内变形振动峰
1315~1317	CH ₂ 摇摆振动
1277~1282	CH 变形振动峰
1225~1235	OH 面内变形振动峰以及 COOH 的 OH 峰
1200~1205	OH 面内变形振动峰
1125~1162	C—O—C 非对称伸缩振动峰
1107~1110	环非对称伸缩振动峰
1015~1060	C—O 伸缩振动峰
985~996	C—O 伸缩振动峰
925~930	吡喃环伸缩振动峰
892~895	C—异头碳伸缩振动峰、C1-H 变形振动峰；环伸缩振动峰
800	吡喃环伸缩振动峰

表 3.3 海藻酸盐和半乳甘露聚糖的 FTIR 特征吸收峰 [50] 单位：cm⁻¹

褐藻酸	海藻酸钠	甘露聚糖	半乳甘露聚糖
1730	—	—	—
1610	1605	1630	—
—	1405	—	1635
920	935	935	—
870	880	870	—
805	810	805	860
—	—	760	805
660	—	—	760(弱)
—	—	600	—

甲壳素在 1650cm⁻¹、1550cm⁻¹和 973cm⁻¹有特征峰，分别对应酰胺 I、II、III 峰；1378cm⁻¹处的尖峰为 CH₃ 对称变形振动吸收峰。由 1655cm⁻¹和 3450cm⁻¹处的峰面积，可测定 N-乙酰基含量，计算公式如下[53]：

$$N\%(\text{乙酰基}) = \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 115$$

(3.1)

3.2 NMR 光谱法

核磁共振光谱法 (NMR 法) 是多糖结构分析最有力的工具。大部分多糖可溶

于 DMSO- d_6 、D₂O 和其他氘代溶剂中, 在这些溶液中, 可以采集到高分辨的 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和二维 NMR 谱图 (溶解性见第 5 章的表 5.1, 溶剂的化学位移见第 8 章的图 8.2)。对难溶解的纤维素和甲壳素, NMR 法则存在一定局限性。瓜尔胶、海藻酸盐和小核菌葡聚糖的低浓度溶液的黏度已经很高, 所得 NMR 图谱分辨率极差。对于纤维素和甲壳素, 必须采用固态 NMR 法或使用特殊溶剂; 对于其他多糖, 建议采用酸降解法 (见 3.2.4)。

3.2.1 ^{13}C NMR 光谱法

如果黏度许可, 需采用 8%~10% (质量分数) 的聚合物溶液进行 ^{13}C NMR 分析。为了解决黏度过高的问题, 可采用酸降解 (见表 3.17) 和超声波降解法^[54], 并在加温条件下进行谱图采集。如果聚合物不能很好地溶于 DMSO, 可加热到 80℃ 或添加少量 LiCl。所用溶剂对信号化学位移会产生影响, D₂O 常导致信号低频移动约 $\delta 1\sim 2$ (δ 值变大), 表 3.4 给出了多糖 ^{13}C NMR 峰的信号归属及化学位移范围。

表 3.4 多糖 ^{13}C NMR 峰的信号归属及化学位移范围

C 原子(基团)	化学位移	C 原子(基团)	化学位移
C-1(β)	103~106	C=O(羧酸基)	175~180
C-1(α)	98~103	COOH	170~175
糖苷键碳, 非异头碳	77~87	O—CH ₃	55~61
C-2~C-5	65~75	O—(C=O)CH ₃	20~23
CH ₂ OH	60~62	CH ₃	15~18

在表 3.5 中, 列出了更详细的多糖化学位移归属。通常, 糖苷键 (C-1) 碳原子的化学位移反映了糖残基异头碳类型, 由 β 异头碳连接的聚合物在 $\delta 103$ 处有 C-1 信号, 如凝胶多糖 (见图 3.2) 或纤维素 (见图 2.1)。

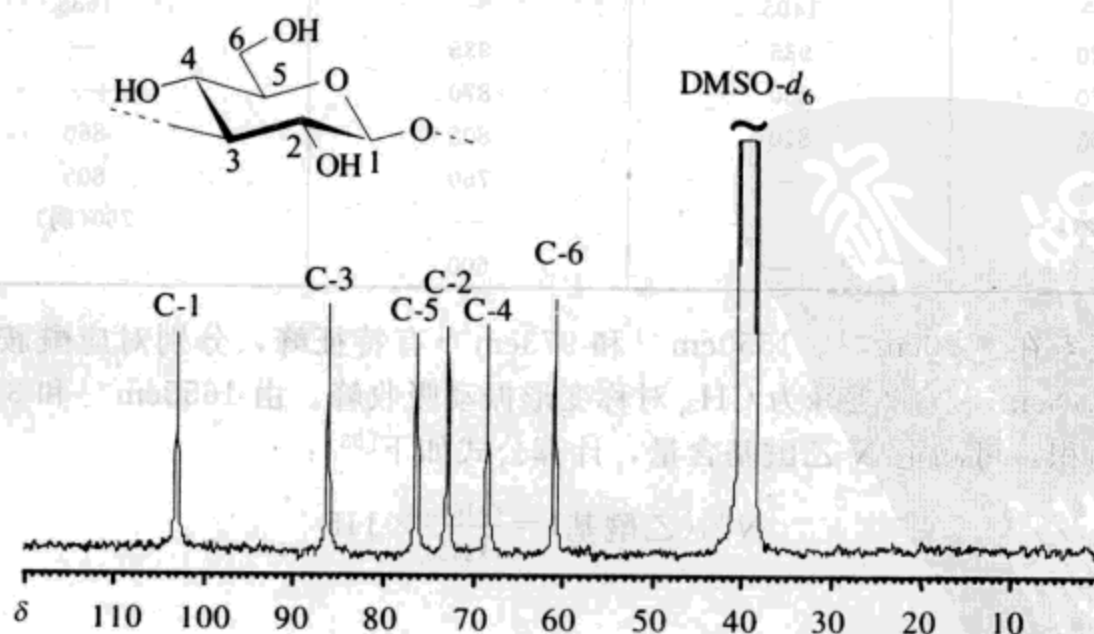


图 3.2 凝胶多糖在 DMSO- d_6 中的 ^{13}C NMR 谱图

(凝胶多糖源自 *Alcaligenes faecalis*)

果) α -异头碳连接的多糖 C-1 峰在 $\delta 98 \sim 100$ 处, $\delta 7 \sim 10$ 的低频移动 (δ 值增加) 常表明糖苷键连有 C-3、C-4 或 C-6。对于 (1 $\rightarrow$ 4)-葡聚糖, 如纤维素和淀粉, C-4 峰约在 $\delta 78$, δ C-6 约在 60; (1 $\rightarrow$ 6)-右旋糖苷的 C-4 峰约在 $\delta 70$, C-6 约在 $\delta 67$ (见图 3.3^[58])。

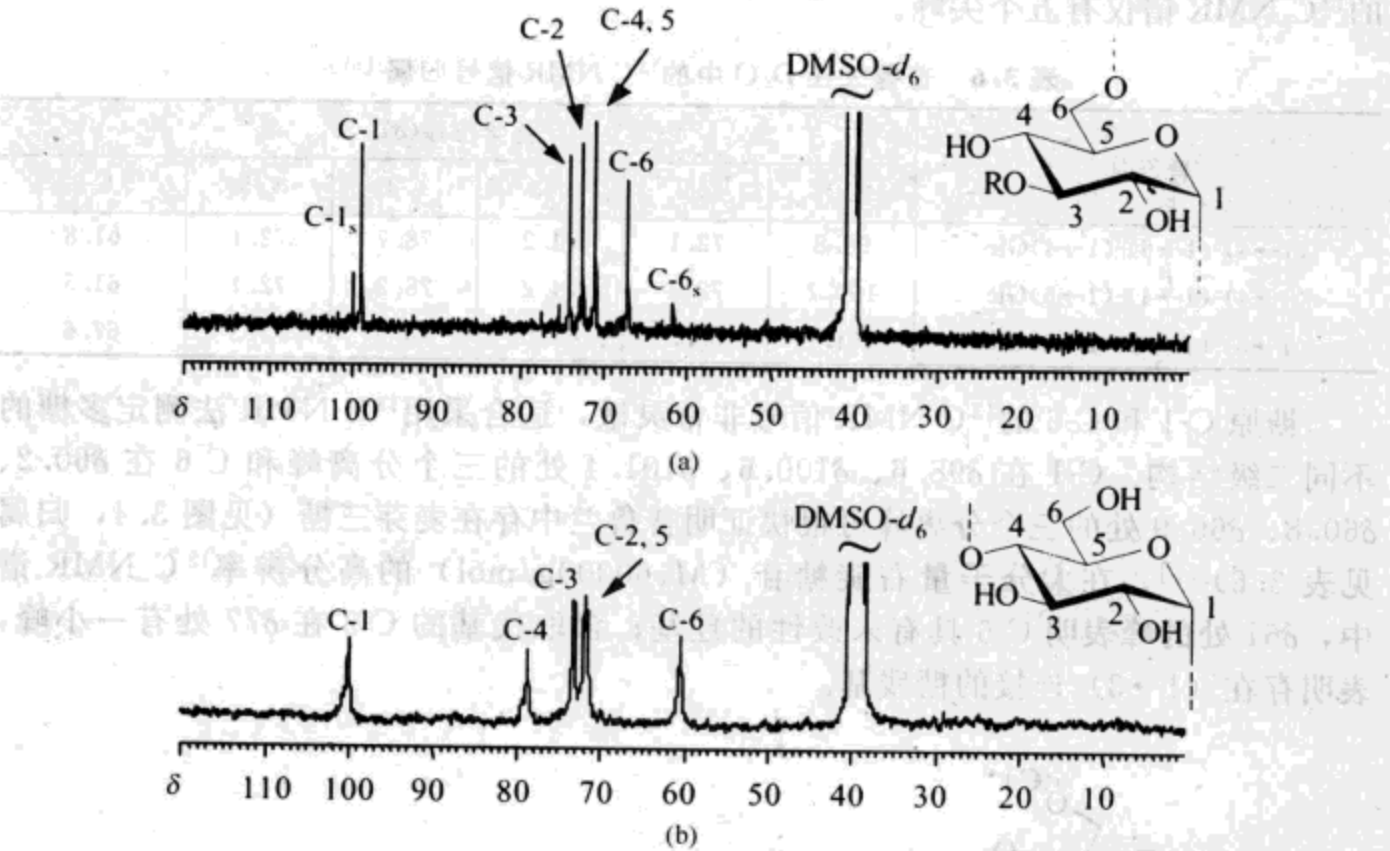


图 3.3 明串珠菌 (*Leuconostoc* spp.) 右旋糖苷 (a) 和淀粉 (b) 的¹³C NMR 谱图
[(a) M_w 6000g/mol, DMSO- d_6 为溶剂, s 代表支化位置;
(b) 含 28% 直链淀粉的玉米淀粉在 DMSO- d_6 中]

表 3.5 不同多糖的¹³C NMR 化学位移

多糖	化学位移						参考文献
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	
小核菌葡聚糖(DMSO- d_6)	104.6	74.1	88.0	70.0	76.5	70.1	[55]
半乳甘露糖-半乳糖(D ₂ O)	101.5	71.2	72.0	72.2	73.8	63.9	[56]
普鲁兰(1 $\rightarrow$ 4)-(1 $\rightarrow$ 6)-(1 $\rightarrow$ 4)Glc(D ₂ O)	98.8	72.1	74.2	78.7	72.1	61.8	[57]
凝胶多糖(DMSO- d_6)	103.0	72.8	86.2	68.4	76.3	60.8	[51]
右旋糖苷(D ₂ O)	98.1	71.8	73.3	70.0	70.3	66.0	[58]
淀粉(DMSO- d_6)	99.9	71.5	73.1	78.6	69.9	60.4	
海藻酸盐	102.2	67.4	71.8	80.3	69.9	177.1	[59]
	103.9	73.3	74.3	82.6	78.9	177.6	
木聚糖	101.5	2.4	73.8	75.3	63.0	—	
菊粉	62.1	103.8	78.0	75.4	82.5	62.4	
纤维素(DMAc/LiCl)	103.9	74.9	76.6	79.8	76.6	60.6	
壳聚糖(CD ₃ COOD)	100.5	58.7	73.0	79.4	77.7	62.9	

在表 3.5 中，给出了含非葡萄糖糖原的多糖的¹³C NMR 化学位移，菊粉（果聚糖）和木聚糖（主要由木糖组成）的糖苷键 C-1 在 δ101~104 处，CH₂OH 在 δ62~70 处，伯碳在 δ72~83 处。在菊粉的¹³C NMR 谱中，在 δ62.1 和 δ62.4 处分别为果糖和葡萄糖的伯碳峰。由于纯木聚糖羧酸盐的羰基信号不可见，所以木聚糖的¹³C NMR 谱仅有五个尖峰。

表 3.6 普鲁兰在 D₂O 中的¹³C NMR 信号归属 [57]

普鲁兰	化学位移(δ)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
(1→4)-(1→6)-(1→4)Glc	98.8	72.1	74.2	78.7	72.1	61.8
(1→4)-(1→4)-(1→6)Glc	100.7	72.4	74.2	78.2	72.1	61.5
(1→6)-(1→4)-(1→4)Glc	101.1	n. d.	74.0	70.6	71.3	67.6

糖原 C-1 和 C-6 的¹³C NMR 信号非常灵敏，适合采用¹³C NMR 法测定多糖的不同二级结构。C-1 在 δ98.6、δ100.6、δ101.4 处的三个分离峰和 C-6 在 δ60.2、δ60.8、δ66.9 处的三个分离峰可很快证明普鲁兰中存在麦芽三糖（见图 3.4，归属见表 3.6）[57]。在大分子量右旋糖苷（M_w60000g/mol）的高分辨率¹³C NMR 谱中，δ61 处的峰表明 C-6 具有未改性的羟基；含取代基的 C-3 在 δ77 处有一小峰，表明存在（1→3）连接的糖残基。

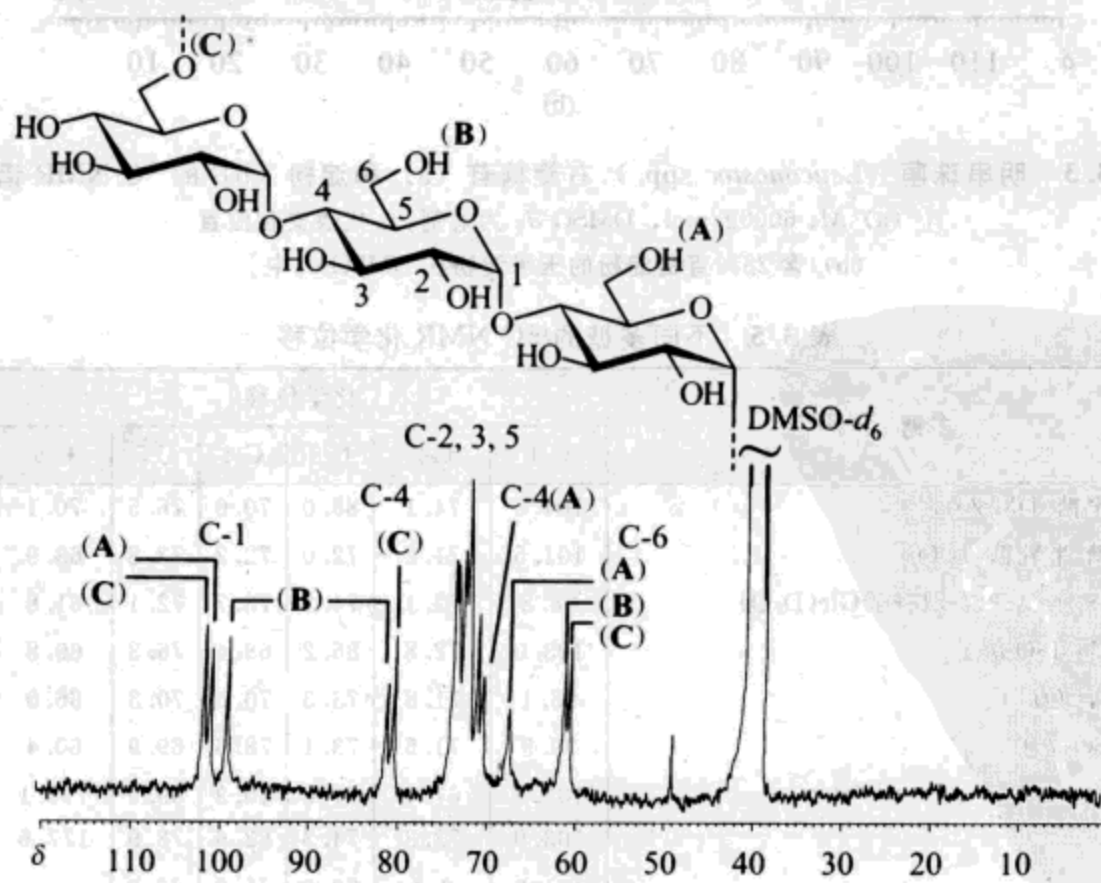


图 3.4 短梗霉多糖（Aureobasidium）普鲁兰在 DMSO-*d*₆ 中的¹³C NMR 谱图

聚合物骨架（糖醛酸）上羧酸片断的邻位碳（C-5）发生低场移动，如在海藻多糖（海藻酸盐）中，C-5 峰出现在 δ78 左右。C-5（约 δ78）、C-4（约 δ81）

和C-1 (约 $\delta 103$) 峰的位置明显受醛酸顺序影响 (见图 3.5), 根据各碳原子信号, 可以分析糖苷键类型和醛酸含量, 并对 β -D-甘露糖醛酸和 α -L-古罗糖醛酸组成的海藻酸盐进行序列分析。采用 ^{13}C NMR 法分析海藻酸盐, 通常需要先对聚合物进行水解, 以获得黏度适当的溶液, 但是, 降解可能会导致不期望的副反应发生。

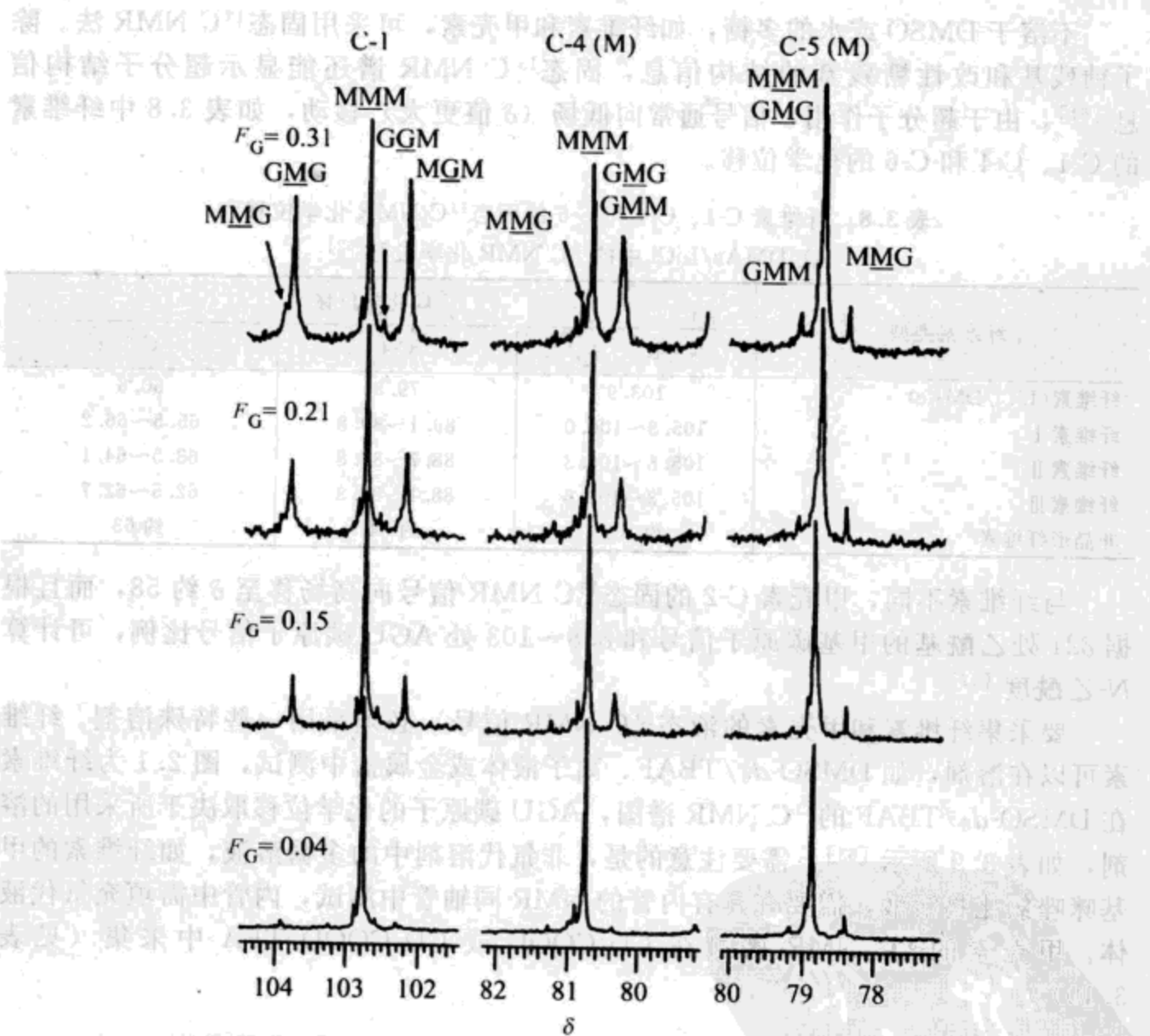


图 3.5 含不同量 α -L-古罗糖醛酸的细菌海藻酸盐的 ^{13}C NMR 谱图

[带下划线的 M (D-甘露糖醛酸) 和 G (L-古罗糖醛酸) 表示该信号分别来自 M 和 G 残基, 无下划线的字母为聚合物链上的相邻残基, 数字为产生该信号的己糖碳原子^[60]]

对未处理过的半乳甘露聚糖, 液态 ^{13}C NMR 存在局限性, 但是, 目前也已采集了洋槐豆子、瓜尔豆、葫芦巴胶半乳甘露聚糖的 ^{13}C NMR 谱图, 并对部分水解过的样品的谱图进行了解析, 甘露糖基的 C-4 共振分裂峰可用于计算水解多糖中甘露糖与半乳糖的比例 (见表 3.7^[56])。

表 3.7 半乳甘露聚糖在 D₂O 中的¹³C NMR 信号归属^[56]

重复单元	化学位移					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
半乳糖	101.5	71.2	72.0	72.2	73.8	63.9
未取代甘露糖	102.8	72.8	74.2	79.1	77.7	63.3
取代甘露糖	102.7	72.6	74.1	79.6	76.0	69.2

不溶于 DMSO 或水的多糖，如纤维素和甲壳素，可采用固态¹³C NMR 法。除了糖残基和改性糖残基的结构信息，固态¹³C NMR 谱还能显示超分子结构信息^[61]，由于超分子作用，信号通常向低场（ δ 值更大）移动，如表 3.8 中纤维素的 C-1、C-4 和 C-6 的化学位移。

表 3.8 纤维素 C-1、C-4 和 C-6 的固态¹³C NMR 化学位移和在 DMAc/LiCl 中的¹³C NMR 化学位移^[62]

纤维素类型	¹³ C 化学位移		
	C-1	C-4	C-6
纤维素 (LiCl/DMAc)	103.9	79.8	60.6
纤维素 I	105.3~106.0	89.1~89.8	65.5~66.2
纤维素 II	105.8~106.3	88.7~88.8	63.5~64.1
纤维素 III	105.3~105.6	88.1~88.3	62.5~62.7
非晶形纤维素	约 105	约 84	约 63

与纤维素不同，甲壳素 C-2 的固态¹³C NMR 信号向高场移至 δ 约 58，而且根据 δ 21 处乙酰基的甲基碳原子信号和 δ 58~103 处 AGU 碳原子信号比例，可计算 N-乙酰度^[47]。

要采集纤维素和甲壳素的液态¹³C NMR 信号，必须采用一些特殊溶剂。纤维素可以在溶剂，如 DMSO-*d*₆/TBAF、离子液体或金属盐中测试，图 2.1 为纤维素在 DMSO-*d*₆/TBAF 的¹³C NMR 谱图，AGU 碳原子的化学位移取决于所采用的溶剂，如表 3.9 所示^[63]。需要注意的是，非氘代溶剂中的多糖溶液，如纤维素的甲基咪唑氯化物溶液，需要在具有内管的 NMR 同轴管中测试，内管中需填充氘代液体。甲壳素的¹³C NMR 谱可在 CD₃COOD 或 CD₃COOD/TFA 中采集（见表 3.10）。

表 3.9 纤维素（DP 40）在不同溶剂中的¹³C NMR 化学位移^[63,64]

溶剂	化学位移					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
NaOH/D ₂ O	104.5	74.7	76.1	79.8	76.3	61.5
镉乙二胺饱和水溶液 (Cadoxen)	103.8	74.9	76.6	78.9	76.4	61.8
氢氧化三甲基苄铵 (Triton B)	104.7	74.9	76.7	80.1	76.4	61.8
LiCl/DMAc	103.9	74.9	76.6	79.8	76.6	60.6
NMMO/DMSO	102.5	73.3	75.4	79.2	74.7	60.2
TFA/DMSO	102.7	72.9	74.7	80.2	74.7	60.2
DMSO	101.8	72.6	73.7	77.3	71.7	60.2

表 3.10 甲壳素在 CD₃COOD 和 CD₃COOD/TFA 中的¹³C NMR 化学位移

溶剂	化学位移					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
TFA/CD ₃ COOD	98.2	56.2	70.7	77.9	75.3	60.8
CD ₃ COOD	100.5	58.7	73.0	79.4	77.7	62.9

除了测定次级结构，¹³C NMR 谱的碳原子信号对解析多糖未知结构也非常有用。借助标准软件（如 ChemDraw Ultra Version 5.0）模拟低聚糖谱图、二维 NMR 技术和 DEPT 135 NMR 光谱法可解析¹³C NMR 谱，DEPT NMR 谱显示碳原子是否带有质子以及质子化程度（CH、CH₂ 或 CH₃）。图 3.6 为右旋糖苷在 DMSO-*d*₆ 中的 DEPT 135 NMR 谱图，δ60~69 处的负峰由不同 CH₂ 引起的，可以归属于不同环境的 C-6 原子，如主链（1→6）糖苷键（约 δ67），“自由” C-6 原子（约 δ60）和次级结构的（1→6）糖苷键 [约 δ69，主要是与（1→3）糖苷键相邻的 C-6]。采用二维 NMR 技术解析¹³C NMR 谱图的内容将在 3.2.3 节进行讨论。

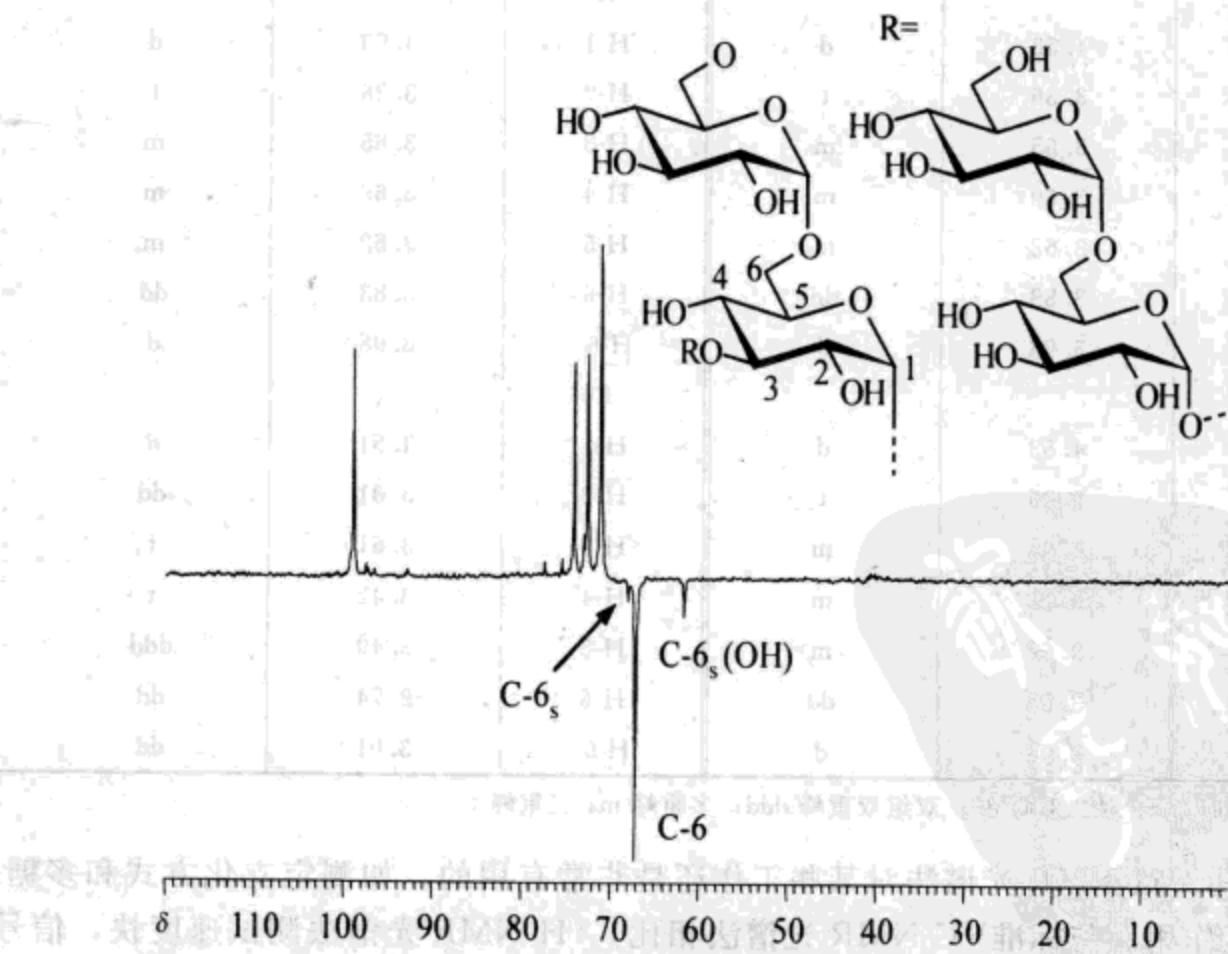


图 3.6 右旋糖苷的 DEPT 135 NMR 谱图
{CH₂ 信号为负峰 [下标 s 表示存在次级结构（1→3）连接]}

3.2.2 ¹H NMR 光谱法

由于分子链上不同氢原子存在结构差异和偶合，¹H NMR 法在多糖结构分析中存在局限性，且纤维素低聚糖链越长，对应质子信号的指认越困难^[65]。甲基β-D-纤维六糖的全谱数据如表 3.11 所示，数量众多的不同信号，最终导致聚合物谱线增宽。由于邻位存在手性碳原子 C-5，H-6 具有两个分离峰。

表 3.11 甲基β-D-纤维六糖¹H NMR 的信号归属^[65]

环	¹ H	多重性	环	¹ H	多重性
A			D		
H-1	4.40	d	H-1	4.53	d
H-2	3.30	dd	H-2	3.36	t
H-3	3.64	m	H-3	3.65	m
H-4	3.63	m	H-4	3.69	m
H-5	3.59	m	H-5	3.62	m
H-6	3.82	dd	H-6	3.83	dd
H-6'	3.99	dd	H-6'	3.98	d
B			E		
H-1	4.53	d	H-1	4.53	d
H-2	3.36	t	H-2	3.36	t
H-3	3.65	m	H-3	3.65	m
H-4	3.69	m	H-4	3.69	m
H-5	3.62	m	H-5	3.62	m
H-6	3.83	dd	H-6	3.83	dd
H-6'	3.98	d	H-6'	3.98	d
C			F		
H-1	4.53	d	H-1	4.51	d
H-2	3.36	t	H-2	3.31	dd
H-3	3.65	m	H-3	3.51	t
H-4	3.69	m	H-4	3.42	t
H-5	3.62	m	H-5	3.49	ddd
H-6	3.83	dd	H-6	3.74	dd
H-6'	3.98	d	H-6'	3.91	dd

注：二重峰 d；双二重峰 dd；双组双重峰 ddd；多重峰 m；三重峰 t。

但是，¹H NMR 光谱法对某些工作还是非常有用的，如测定支化方式和多糖-溶剂相互作用。与标准¹³C NMR 光谱法相比，¹H NMR 光谱法测试速度快，信号可用于定量分析，而且所需聚合物浓度低，1%（质量分数）的样品浓度即可满足测试要求。

在表 3.12 中，给出了多糖¹H NMR 的大致化学位移和对应质子的归属。据所用溶剂不同，可能会检测到多糖羟基。在纯 DMSO-d₆ 中，样品 δ4.4~5.4 左右有

尖的 OH 峰，这些 OH 信号可提供结构信息，但在许多多糖 NMR 谱图中，这些信号会与 RU 质子信号产生干扰，得到更复杂的谱图，最终导致聚合物结构解析复杂化。在这种情况下，建议采用 D₂O/ DMSO-*d*₆ 混合液，或将质子氘代后再在 DM-SO-*d*₆ 中测试，这样可以抑制 OH 信号。

表 3.12 多糖¹H NMR 信号的化学位移和所属氢原子

H 原子(基团)	化学位移	H 原子(基团)	化学位移
H-1(α)	4.9~5.8	O—CH ₃	3.3~3.5
H-1(β)	4.4~4.9	O—(C=O)CH ₃	2.0~2.2
H-2~H-6	3.3~4.5	CH ₃	1.4~1.6
COOH	9~13		

由于¹H NMR 信号发生分裂，在 RU 质子信号范围内存在更多指纹信息，如表 3.13 中普鲁兰的 NMR 数据。其中，1 位异头质子信号是结构解析中最灵敏的探针， α -D-糖原信号在 δ 4.9~5.8 区间、 β -D-糖原在 δ 4.4~4.9 有信号（见表 3.15）。与（1→4）连接相比，（1→6）支链一般发生高场移动，右旋糖苷的（1→6）异头质子峰位于 δ 4.95，淀粉的（1→4）异头质子峰位于 δ 5.42。异头质子信号位移可用于对普鲁兰进行序列解析。 δ 5.28 处的信号证明对于右旋糖苷存在 α -(1→3)-D-葡萄糖侧链 [与（1→6）主链相比，低场移动约 δ 0.3^[66]]。

如果一个聚合物含有多种次级结构，通过分析异头质子信号，可以完成定量结构分析（如支化度和侧链链长），目前已对不同 β -D-(1→3, 1→6) 连接的葡聚糖，如海带多糖（laminaran）、凝胶多糖（curldan）和小核菌葡聚糖（scleroglucan）进行了相关分析^[55]，根据不同 AGU H-1 的相对比例，可以得到 DP 和支化度。在 DMSO-*d*₆ : D₂O（6 : 1）混合溶剂中、80℃ 下采集到的谱图中，还原端 α -异头质子和 β -异头质子分别出现在 δ 5.02~5.03（*J* 3.6~3.7Hz）和 δ 4.42~4.43（*J* 7.6~7.9Hz）；中间 AGU 和 β -(1→6) 支链 AGU 的 H-1 峰分别在 δ 4.56~4.59（*J* 7.6~7.8Hz）和 δ 4.26~4.28（*J* 7.6~10.6Hz）；非还原端 H-1 和与非还原端相连 AGU H-1 信号分别位于 δ 4.45~4.46（*J* 7.8~7.9Hz）和 δ 4.51~4.53（*J* 7.8Hz）。采用上述方法，测得海带多糖 DP 为 33，DB 为 0.07，海带多糖侧链上含有不止一个葡萄糖原；准确计算得小核菌葡聚糖 DB 为 0.33。分析酵母甘露聚糖的谱图，可得到结构信息^[56,57]， δ 5.04~5.31 的信号显示只存在 α -连接，¹H NMR 示可测定所有支化方式甚至（1→2）连接（见图 3.7）。

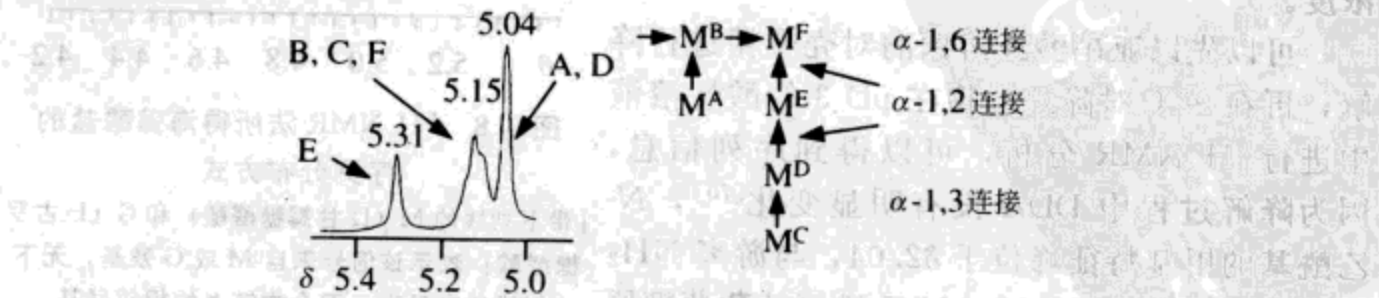


图 3.7 酵母甘露聚糖的支化方式以及对应异头质子的¹H NMR 化学位移^[51,67]

^1H NMR 法可用于普鲁兰序列分析，除了分析异头质子信号，还可由其他 AGU 质子信号获得序列信息，具体结果如表 3.13。由质子的化学位移可以确定对应 AGU 在链中的位置， ^1H NMR 法证实，除了已知的麦芽三糖片断 [(1→4)，(1→6)，(1→4)；(1→4)，(1→4)，(1→6) 和 (1→6)，(1→4)，(1→4)]，随来源不同，普鲁兰也可能含有带一个 [(1→4)，(1→4)，(1→4)] 结构单元的 α -(1→6) 麦芽低聚糖^[57]。

表 3.13 普鲁兰在 D₂O 中的质子化学位移^[57]

普鲁兰	化学位移					
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
(1→4)-(1→6)-(1→4)Glc	4.94	3.59	3.99	3.65	3.84	3.82,3.91
(1→4)-(1→4)-(1→6)Glc	5.36	3.63	3.94	3.58	3.91	3.82,3.84
(1→6)-(1→4)-(1→4)Glc	5.32	3.60	3.69	3.45	3.91	3.97,3.91
(1→4)-(1→4)-(1→4)Glc	5.31	3.62	3.98	3.65	3.91	n. d.

含糖醛酸片断的多糖的 5 位质子信号与异头质子信号位于同一区间 (δ 4.4~5.2)，如图 3.8 中降解海藻酸盐的 ^1H NMR 图所示。

在轻度降解样品的高分辨 ^1H NMR 谱中，异头质子和 5 位质子的信号可用于测定 L-古罗糖醛酸与 β -甘露糖醛酸比例、四种二糖 (MM、MG、GM、GG) 以及所有以 L-古罗糖醛酸为中心的三糖的含量，相关数据如表 3.14 所示^[68,69]。

根据以下关系，可以计算单糖、二糖和三糖的含量： $F_G + F_M = 1$ ， $F_G = F_{GG} + F_{GM}$ ， $F_M = F_{MM} + F_{MG}$ ， $F_{GG} = F_{GGM} + F_{GGG}$ ， $F_{MM} = F_{MMG} + F_{MMM}$ ， $F_{MG} = F_{MGM} + F_{MGG}$ 和 $F_{GM} = F_{GMM} + F_{GMG}$ (F 值为摩尔分数^[60])。

降解后，可在 90℃ 下采集甲壳素和壳聚糖在 pD 3 的酸性水溶液中的 ^1H NMR 谱 (见图 3.9)。pD 值与 pH 值类似，其对应 D⁺ 的浓度。

可以先以亚硝酸或溶菌酶对壳聚糖进行降解，再在 90℃ 对降解产物在 pD 3 的酸性溶液中进行 ^1H NMR 分析，可以得到序列信息，因为降解过程中 DDA 没有明显变化^[70]，N-乙酰基的甲基特征峰位于 δ 2.04，与游离 NH₂ 相连的 H-2 峰在 δ 3.15。N-乙酰氨基葡萄糖原的 H-1 在 δ 4.55~4.65 出峰，脱乙酰氨基葡萄糖原的 H-1 在 δ 4.88 出峰，因此， ^1H NMR 谱可用于测定 N-乙酰基含量，并分析

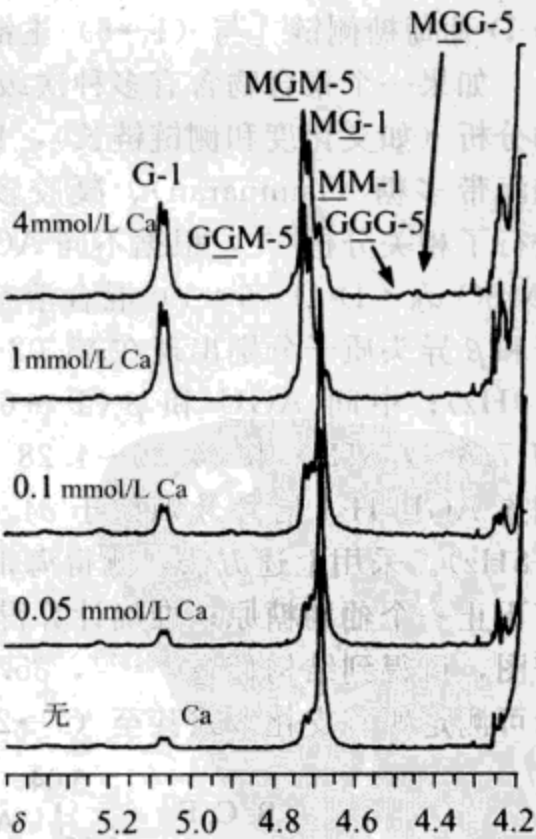


图 3.8 ^1H NMR 法所得海藻酸盐的序列分布方式

[带下划线的 M (D-甘露糖醛酸) 和 G (L-古罗糖醛酸) 表示该信号来自 M 或 G 残基，无下划线的字母表示聚合物链上的相邻残基，数字为产生该信号的己糖质子的位置^[60]]

乙酰化 (A) 和脱乙酰化 (D) 糖残基的连接方式和序列 (见图 3.10)。

表 3.14 90℃下海藻酸盐在 D₂O 中的质子化学位移

残基	序列	质子			
		H-1(还原端)		H-1 (内部)	H-5 (内部)
		α	β		
M	MM	5.21	4.89	4.67	
	MG			4.70	
G	GG		4.88	5.05	
	GM		4.84		
	GGG			5.05	4.46
	MGG			5.05	4.44
	GGM			5.05	4.75
	MGM			5.05	4.73

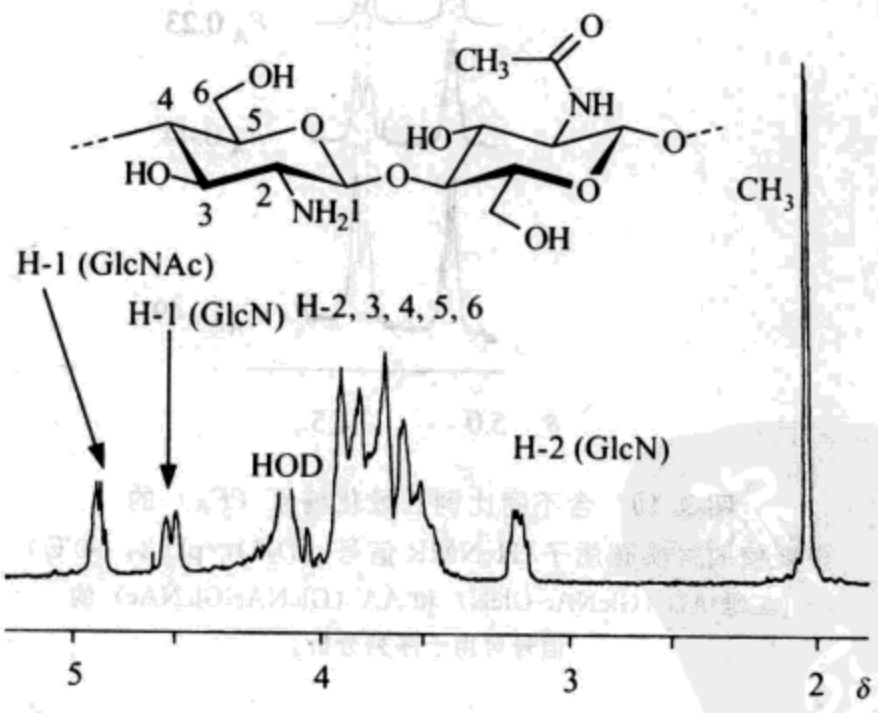


图 3.9 壳聚糖在 D₂O 中的¹H NMR 谱图 (pD 3, 90℃)

解析复合多糖结构和多糖混合物的一个有用方法就是对多糖进行完全降解 (酸解法), 并以 α -异头质子和 β -异头质子 (H-1) 为探针, 测定单糖类型和浓度, 相关质子化学位移如表 3.15 所示。这种方法快速、可信, 但无法得到糖原连接方式, 但是, 这种方法可以成功地用于分析含葡萄糖、甘露糖、半乳糖、木糖、鼠李糖、阿拉伯糖和葡萄糖醛酸的木质素纤维类生物质 (木材、纸浆、农业残渣等)^[71]。运用这种方法时, 需要注意各糖原的水解稳定性差异 (我们将在下面的章节中对此进行介绍)。

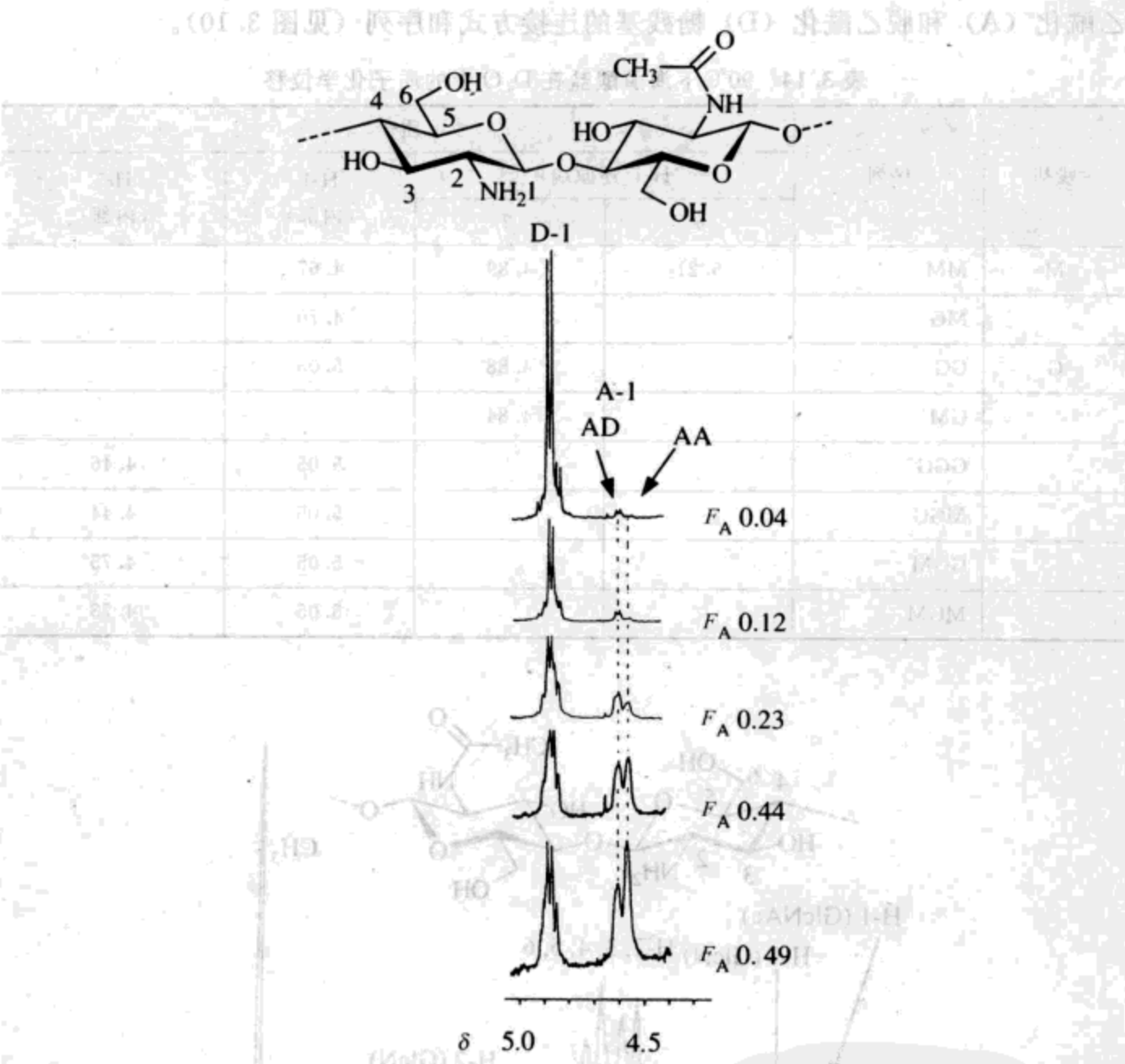


图 3.10 含不同比例乙酰化糖原 (F_A) 的壳聚糖的异头碳质子¹H NMR 信号 (D_2O , pH 3, 90℃)
[二糖 AD (GlcNAc-GlcN) 和 AA (GlcNAc-GlcNAc) 的信号可用于序列分析]

表 3.15 用于分析复合多糖结构的探针单糖的异头质子化学位移^[19,72]

探针单糖 ^①	质子								
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7	CH ₃	NAc
α -D-Glc-(1→	5.1	3.56	3.72	3.42	3.77	3.77	3.87	—	—
β -D-Glc-(1→	4.4	3.31	3.51	3.41	3.45	3.74	3.92	—	—
α -D-Man-(1→	4.9	3.98	3.83	3.70	3.70	3.78	3.89	—	—
β -D-Man-(1→	4.7	4.04	3.63	3.58	3.37	3.76	3.93	—	—
α -D-Gal-(1→	5.2	3.84	3.90	4.02	4.34	3.69	3.71	—	—
β -D-Gal-(1→	4.5	3.52	3.67	3.92	3.71	3.78	3.75	—	—
β -D-GlcNAc-(1→	4.7	3.75	3.56	3.48	3.45	3.90	3.67	—	2.04

续表

探针单糖 ^①	质子								
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7	CH ₃	NAc
α-D-GalNAc-(1→	5.2	4.24	3.92	4.00	4.07	3.79	3.68	—	2.04
β-D-GalNAc-(1→	4.7	3.96	3.87	3.92	3.65	3.80	3.75	1.23	2.01
α-L-Fuc-(1→	5.1	3.69	3.90	3.79	4.1~4.9 ^②	—	—	1.28	—
α-L-Rha-(1→	4.9	4.06	3.80	3.46	3.74	—	—	—	—
β-D-Xyl-(1→	4.5	3.27	3.43	3.61	③	—	—	1.32	—
3-O-Me-α-L-Fuc-(1→	4.8	3.70	3.40	—	3.89	—	—	1.32	—
3-O-Me-α-L-Rha-(1→	5.0	4.24	3.59	3.52	3.77	—	—	1.32	—
2,3-di-O-Me-α-L-Rha-(1→	5.1	3.94	3.52	3.41	3.73	—	—	—	—
3,6-di-O-Me-β-D-Glc-(1→	4.7	3.34	3.31	3.51	3.51	3.66	3.78	—	—

① 通过糖苷键与探针单糖相连的非还原端糖原的平均面积。当该碳原子所连 OH 与另一糖原相连时，环碳质子信号发生低场移动。

② 由于构象原因，这些信号比其他信号变化更明显。

③ H₅ 直立键 3.29；H₅ 平伏键 3.93。

3.2.3 二维 NMR 技术

要指认所有 NMR 信号，通常需借助谱图模拟、DEPT（无畸变极化转移增强

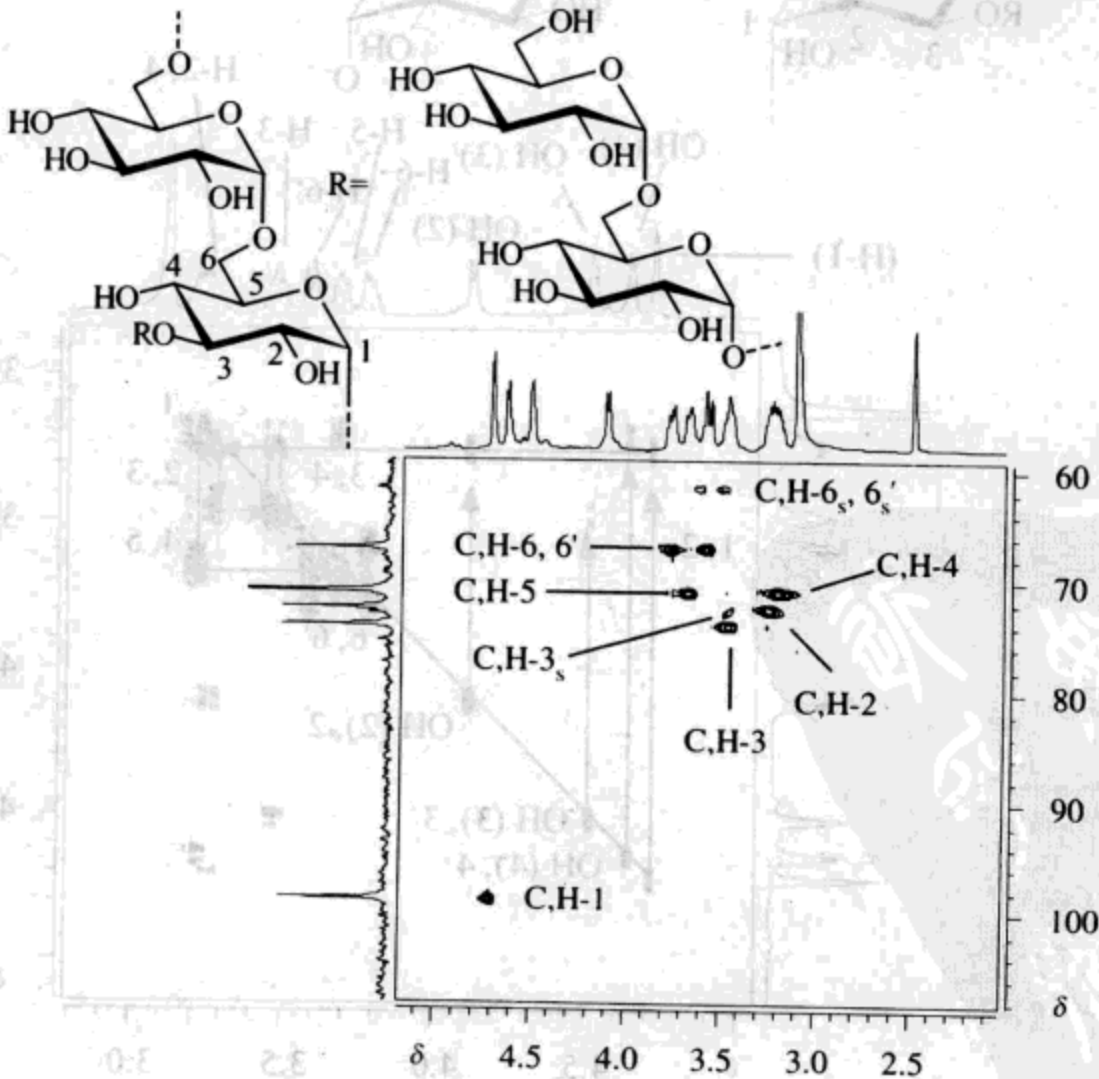


图 3.11 *Leuconostoc* spp. 右旋糖苷的 HMQC NMR 谱图
[下标 s 表明存在次级结构 (1→3) 连接]

技术) NMR、二维 NMR 技术如 COSY (相关光谱学, $^1\text{H}^1\text{H}$ 耦合)、HMQC (异核多量子相关谱, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ 耦合) 和 HMBC (异核多键相关谱, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ 耦合) 技术。下面将以从 *Leuconostoc* spp 提取的右旋糖苷为例, 对这些技术进行简单介绍, 采用类似方法可解析大多数天然多糖。在 ^{13}C NMR 谱中, 糖苷键 C-1 在 $\delta 96 \sim 103$ 有一个特征峰, 很容易指认; 伯碳 (C-6) 可用 DEPT 135 NMR 测定, 因为存在 CH_2 , 会有一个负峰出现。HMQC 可提供同一个键上 (直接相连) 的碳-质子耦合信息, 由交叉峰可确认, H-1 在 $\delta 4.7$ 的信号和 C-6 的两个化学不等质子信号 (H-6 和 H-6' 分别在 $\delta 3.55$ 和 $\delta 3.7$) (见图 3.11)。另外, 如果采用 $\text{DMSO}-d_6$ 为溶剂, 由 HMQC 可分辨 OH (在 $\delta 4.1 \sim 4.65$), 因为 OH 不存在交叉峰。

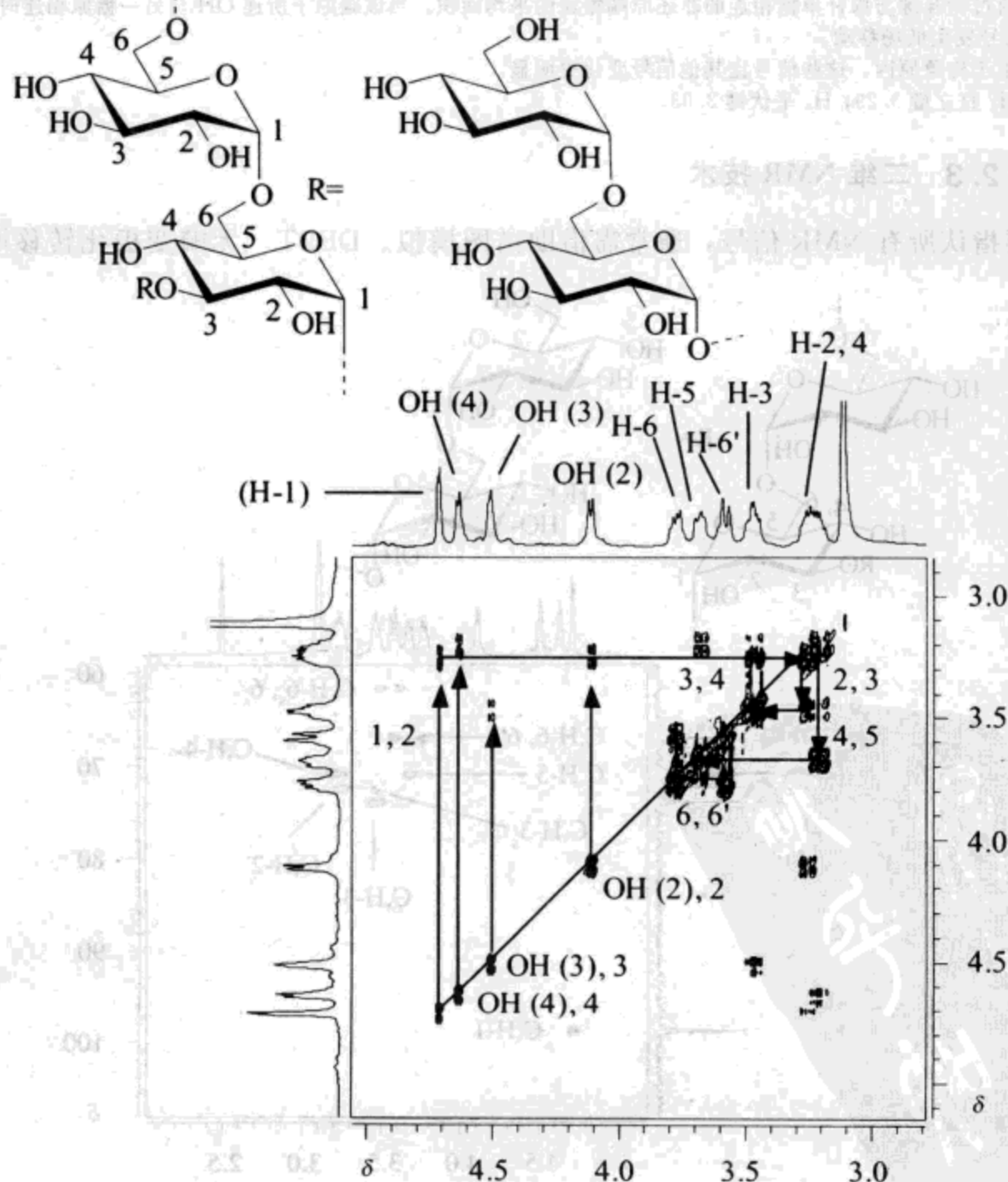


图 3.12 *Leuconostoc* spp. 右旋糖苷的 COSY NMR 谱图

采用 COSY NMR 可对¹H NMR 谱进行完全指认, 如图 3.12 所示, 图中包含了相邻质子(三个键的距离)的耦合信息, 可以从 H-1 峰出发, 由一个交叉峰到另一个交叉峰(见图 3.12 中的箭头), 从而确定 H-2、H-3、H-4 和 H-5 峰的位置。

H-5 和 H-6 间的耦合通常很弱, COSY 谱上无对应交叉峰, 但是, 可采用前面的方法先对 H-6 峰进行指认, 以 DMSO-*d*₆ 为溶剂, 由 OH 质子与 AGU 质子的耦合可确定 H-6 峰。对于右旋糖苷, 仅 H-2、H-3 和 H-4 具有对应交叉峰, 再回到 HMQC 谱中(见图 3.11), 则很容易分辨各 AGU 碳原子的¹³C NMR 峰。

COSY NMR 谱也可提供细菌海藻酸盐的骨架结构、乙酰化程度以及乙酰基在聚合物上的位置等信息^[73]。除了¹H 和¹³C NMR 光谱法,²³Na NMR 和³¹P NMR 光谱法也可用于分析多糖的次级结构。在²³Na NMR 分析过程中, 由²³Na 核的弛豫时间, 可了解海藻酸盐聚合物所连钠离子的交换速度^[74]; 采用³¹P NMR 法, 对普鲁兰和淀粉的磷酸化重复单元结构进行了测定^[57]。

3.2.4 色谱法和质谱法

控制降解和色谱法(尤其是 GLC 和 HPLC)检测单糖, 对多糖结构表征很有帮助, 其操作过程简单如下: 先以磷酸或高氯酸(70%, 质量分数, 参见本书实验部分)完全降解多糖, 再以稀硫酸为流动相, 升温下、以 HPLC(离子交换树脂, 如 BioRad Aminex HPX 或 Rezex ROA 柱)分离检测单糖。多糖中常见单糖的保留时间如表 3.16 所示。通常示差折光法的灵敏度已足够, 但示差法需要已知糖的响应因子或先测定糖的响应因子。也可以采用脉冲安培检测法或 UV 检测法, 如果采用 UV 法, 建议先对单糖进行衍生化处理(见表 3.1 中总结的比色反应)。

表 3.16 多糖中常见单糖和糖醛酸的 HPLC 保留时间

单 糖	保留时间/min	单 糖	保留时间/min
阿拉伯糖(Arabinose)	25.2~25.3	鼠李糖(Rhamnose)	24.6~24.7
果糖(Fructose)	23.5	核糖(Ribose)	26.0~26.2
葡萄糖(Glucose)	21.8~22.0	木糖(Xylose)	23.3~23.5
葡萄糖醛酸(Glucuronic acid)	19.5~19.7	乙酸钠	34.8~34.9
甘露糖(Mannose)	23.1~23.3		

注: BioRad Aminex HPX 和 Rezex ROA 柱, 流出液: 0.005mol/L 硫酸, 65℃。

变旋不会导致信号分裂, 但是, 对一些酮糖, 如菊粉中的果糖, 强酸性介质处理会导致降解, 并有无法解析的信号产生。表 3.17 总结了一些水解条件下, 可用于控制降解重复单元水解稳定性存在明显差异的多糖。

水解法与 HPLC 分析联合使用, 可对多糖结构和杂质进行定性定量分析, 如云杉亚硫酸盐纸浆中半纤维素的含量, 如图 3.13 所示。如果用 TFA 对菊粉进行适度降解, 就可以看到葡萄糖和果糖重复单元的信号, 由这些信号可计算菊粉的 DP。

表 3.17 含不同水解稳定性糖原的多糖的水解条件

方 法	适用范围
2%草酸,80℃,30min 加入乙酸钙,草酸以草酸钙沉淀脱除	呋喃糖水解不稳定
2mol/L TFA,120℃,1h GlcNAc 和 GalNAc 的脱乙酰化导致不完全水解,因此在再乙酰化后可重复水解	适用于 Arap, Xylp, Manp, Galp, Glcp, GlcNAc, Gal-pNAc 含量高的多糖,不适用于甲壳素和纤维素
2mol/L TFA,120℃,1h(不完全水解)	GalAp, GlcAp GalNp, GlcN 水解稳定
70%~90% 蚁酸,100℃,4~24h,再在 2mol/L TFA 中 100℃水解 1h(不完全水解)	含糖醛酸的多糖 糖醛酸水解稳定
72% H ₂ SO ₄ , 25℃, 1h, 溶胀纤维,再稀释至 3%~4%, 120℃, 1h 添加 Ba(OH) ₂ 和 BaCO ₃ , H ₂ SO ₄ 以 BaSO ₄ 形式脱除	结晶多糖(除了纤维素)

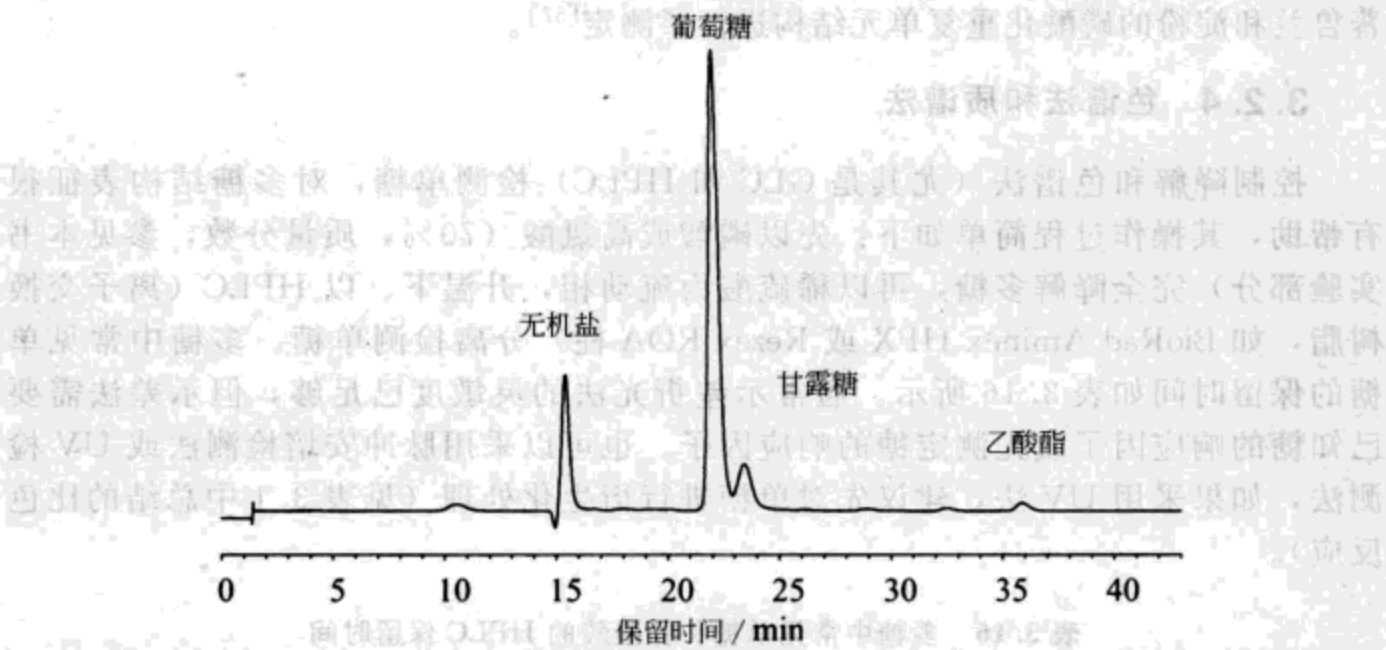


图 3.13 水解后云杉亚硫酸盐纸浆的 HPLC 谱图
(显示半纤维素中存在甘露糖)

为了测定海藻酸盐的两种糖醛酸的比例,需先对聚合物进行水解,再以 HPLC 对单糖成分进行检测。这个方法在实际应用中存在一定局限性,因为在酸性条件下,重复单元可能通过脱羧反应发生降解,两种醛糖酸的降解速度存在差异,古罗糖醛酸降解速度大于甘露糖醛酸^[75];水解速度还取决于重复单元在主链上的分布^[76]。但是,由于 HPLC 具备的方便性和快捷性,在测定海藻酸盐中的糖醛酸比例时, HPLC 仍非常受欢迎^[77]。

另一种方法为:先对褐藻酸进行甲醇解,再以甲酯化 D-甘露糖醛酸-6, 3-内酯为内标,进行 HPLC 分析^[78]。但是,在甲醇解反应中,甘露糖醛酸比古罗糖醛酸反应活性高,当甲醇解不完全时,所得甘露糖醛酸的含量偏高^[79]。

一个替代酸解法的方法为:先进行酶降解,再对所得低聚糖进行色谱分析。通过酶解普鲁兰及后续 HPLC 分析,可确定含多于十个葡萄糖残基的低聚麦芽糖的存在^[57]。这种方法也可用于测定右旋糖苷的支化方式^[66]。可采用 RP₈/RP₁₈ (反

相硅胶)、APS (氨基硅胶) 或 HPX (带 Ag^+ 、 Pb^+ 、 H^+ 的聚苯乙烯) 相分离低聚糖; 也可以在 Dionex 柱上, 以 NaOH 为淋洗液, 通过阴离子交换实现分离。

在 GLC 分析前, 需先将糖转化为可挥发性的衍生物。为了避免单糖出现多重峰, 在对糖的 OH 、 NH_2 或 COOH 改性前, 需先对 C-1 醛基进行改性, 最常用的方法是: 在氨水或 DMSO 中, 用 NaBH_4 转化醛基为醛醇; 或在吡啶中, 与羟胺反应, 转化为肟或甲基肟^[80]。

常用的后续改性反应有: 在乙酸钠催化下, 在吡啶中与乙酸酐进行乙酰化反应, 以及硅烷化反应。许多试剂可进行多糖硅烷化改性, 如六甲基二硅烷、三甲基氯硅烷、双三甲硅基乙酰胺, 三甲基硅咪唑和双三甲硅基三氟乙酰胺。三甲基硅基衍生物具有挥发性, 可用于 GLC 分析低聚糖。对含有糖醛酸单元的多糖, 情况可

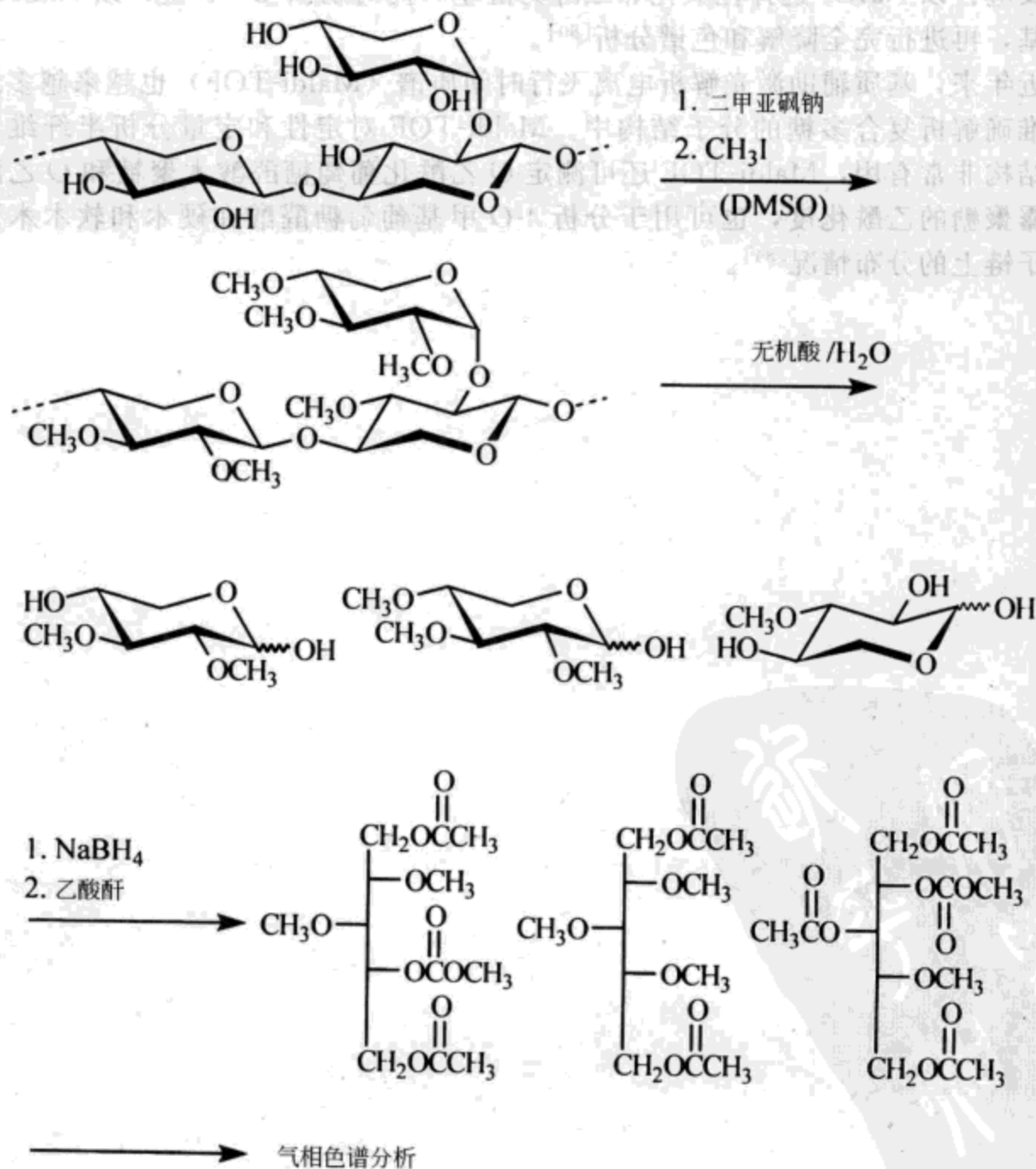


图 3.14 多糖的甲基化分析流程 (木聚糖^[83])

能会更复杂，因为糖醛酸单元通常被转化为醛糖酸，醛糖酸易形成醛糖酸-1,4-内酯。通过硅烷化改性，测定了水解树脂中甘露糖与古罗糖的比例，结果证实这种方法可行。

通过甲基化改性、GLC-MS 分析，可确定多糖重复糖原的连接方式，具体方法如下：将多糖溶解在 DMSO 中，以二甲亚砷钠（由 DMSO 与 NaH 或 Na 反应，部分脱质子所得）和碘甲烷进行甲基化改性^[81,82]，对全甲基化多糖进行水解、NaBH₄ 还原，得单糖醛醇衍生物，再以乙酸酐对醛醇衍生物进行乙酰化改性，最后进行 GLC-MS 分析，根据甲氧基/乙酰氧基比例，可获得多糖支化信息，图 3.14 所示为葡聚糖甲基化分析的全过程^[83]。

为了获得多糖的 RU 结构信息，色谱分析前的另一种多糖改性方法是 NaIO₄ 氧化反应：以 NaIO₄ 选择性氧化邻二醇为醛基，同时切断 C—C 键，以 NaBH₄ 还原醛基，再进行完全降解和色谱分析^[80]。

近年来，基质辅助激光解析电离飞行时间质谱（Maldi-TOF）也越来越多地应用到准确解析复合多糖的分子结构中。Maldi-TOF 对定性和定量分析半纤维素的次级结构非常有用，Maldi-TOF 还可测定 O-乙酰化葡萄糖醛酸木聚糖和 O-乙酰化葡甘露聚糖的乙酰化度，也可用于分析 4-O-甲基葡萄糖醛酸在硬木和软木木聚糖高分子链上的分布情况^[84]。



图 3.14 葡聚糖甲基化分析的全过程

4 羧酸酯——传统合成方法

多糖与羧酸或羧酸衍生物的酯化反应是目前应用最广泛的多糖改性方法之一，这类方法已有成熟的工业化技术，可生产多种高价值的多糖产品。由于多糖溶液黏度很高、溶剂成本高以及多相反应中后处理工艺简单等因素，目前多糖酯的工业化生产均采用非均相反应。部分改性的多糖衍生物通常不可溶，纤维素的衍生物更是如此，因此，人们期望制备完全改性的衍生物。

人们已经研究了各种各样的溶剂，甚至采用了一些特殊的复合溶剂，进行实验室规模的均相酰基化反应，通过这些均相反应，可以合成易溶的部分改性的多糖衍生物。采用新型有机试剂制备结构多样性的多糖衍生物，通常也必须在均相条件下进行。新溶剂的发展开启了纤维素和甲壳素的新纪元。目前，人们仍在对酯化反应的普通有机溶剂和复合溶剂进行广泛研究，以期因此获得具有新型结构的多糖衍生物。

4.1 羧酰氯和羧酸酐的酰基化反应

传统的多糖酯化反应为非均相过程，但是，以羧酸酐或羧酰氯为酰化剂，由于酯化产物常发生溶解，所以酯化过程中通常也会存在均相混合物。一些敏感酸的羧酸酐或羧酰氯要么很昂贵，要么难以获得；另外，复杂酸的酸酐和酰氯化物通常不可溶，因此，人们常采用传统非均相酰基化反应，进行多糖羟基与脂肪酸（乙酸或硬脂酸）和芳酸（取代苯甲酸）的完全酯化反应。在过去 60 年里，有大量多糖酯的相关文章发表（仅纤维素酯就约 54000 篇），本章将对常用的多糖酯化技术及其发展潜力进行介绍。

4.1.1 非均相酰基化反应——工业途径

最常用的多糖酰基化反应是酸酐非均相反应（见图 4.1）。

纤维素乙酸酯是最重要的商业多糖羧酸酯，工业上或实验室均由乙酸或乙酸酐（10%~40%过量于生成纤维素三乙酸酯所需量）与纤维素〔以硫酸为催化剂（达 15%，质量分数）〕混合反应制备。混合物迅速生成硫酸-乙酸混合酸酐（通常称为乙酰硫酸），乙酰硫酸产生一个乙酰阳离子（见图 4.2^[85,86]）。反应过程中存在部分硫酸化反应，这抑制了纤维素三乙酸酯的生成，不过，大部分引入的硫酸基会在反应中被乙酰基取代或在后处理过程中脱落。制备淀粉三乙酸酯时，建议先对淀粉进行脱水处理（使含水量小于 3%），并在回流温度下进行反应^[87]。

为了更好地控制反应温度和减少催化剂用量（低至 1% H_2SO_4 ，质量分数），

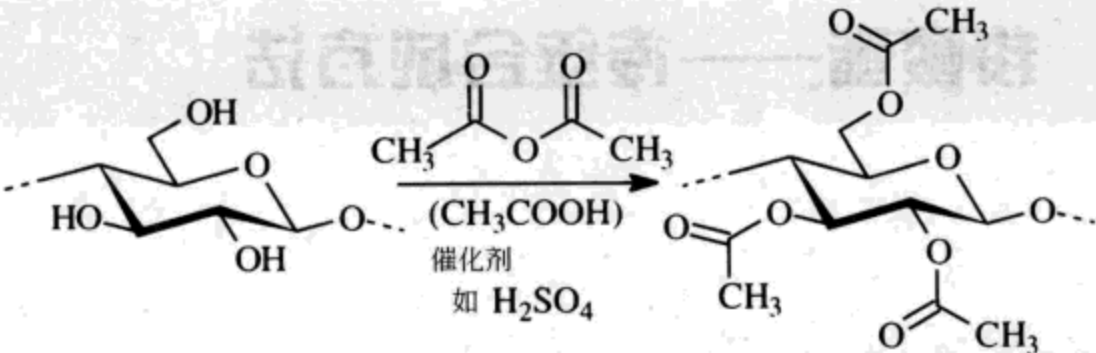


图 4.1 纤维素与乙酸酐/乙酸的反应

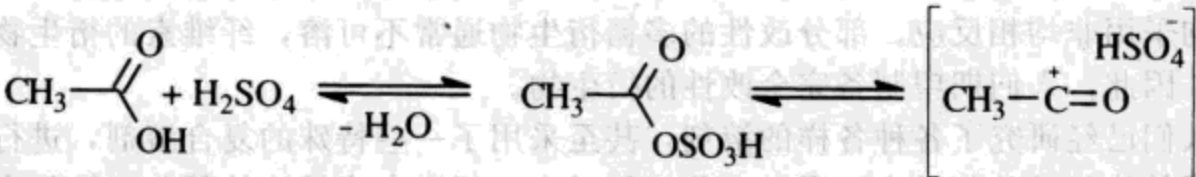


图 4.2 反应中间体乙酰硫酸的生成

可在二氯甲烷中进行乙酰化反应，反应最终产物会发生溶解。大部分商业纤维素乙酸酯通过该途径制备。

另一种方法是：以高氯酸为催化剂，在惰性溶剂如甲苯中，进行纤维素乙酰化反应^[88]。15mg 催化剂，5g 纤维素，40mL 乙酰试剂，32℃，反应 24h，得纤维素三酯。该反应可避免引入硫酸催化体系中存在的副产酯基。多糖高级结构在许多应用中起决定作用（如色谱手性分离固定相，见第 10 章），如果产物需保留多糖的高级结构，可以采用这种方法。

对全乙酰化纤维素进行一锅法水解，可部分脱乙酰，得到纤维素二乙酯（乙酰基含量约 40%，DS_{Ac} 2.4~2.6）；纤维素二乙酯应用广泛，溶于丙酮，纺纱和成型过程与这一特点密不可分。上述“合成弯路”是有必要的，因为由纤维素直接合成的相同 DS 的纤维素酯不能溶于丙酮^[1,2]，产生这种现象的原因至今还不明确（见第 8 章），酯基在链上分布不均匀或 6 位羟基被完全衍生化，均可能导致纤维素二酯溶解性下降。DS 0.6~0.9 纤维素乙酸酯的水溶性也存在类似现象，DS 0.6~0.9 纤维素乙酸酯只能通过均相酯化反应（见表 4.1）或纤维素三乙酸酯水解制备。

表 4.1 不同DS纤维素乙酸酯（由纤维素三乙酸酯水解所得）的溶解性

纤维素乙酸酯 DS	溶剂			
	氯仿	丙酮	2-甲氧基乙醇	水
2.8~3.0	+	—	—	—
2.2~2.7	—	+	—	—
1.2~1.8	—	—	+	—
0.6~0.9	—	—	—	+
<0.6	—	—	—	—

注：— 不可溶，+可溶。

不同 DS 纤维素乙酸酯的溶解性如表 4.1 所示。更长链的脂肪酸多糖酯（如丁

酯) 以及多糖乙酸酯的混合酯均可采用相同方法制备: 在硫酸催化下, 多糖与乙酸和相应酸酐在二氯甲烷中反应。

现在有许多其他效率更高、反应条件更温和的催化剂。“推进剂”法对多糖酰基化反应很有效, 羧酸或酸酐被原位转化为对称酸酐与混合酸酐的混合反应物 (见图 4.3), 常用推进剂有氯乙酰基、甲氧基乙酰基、三氟乙酰基, 其中三氟乙酰基最重要^[90,91], 采用这种方法, 可制备几乎完全改性的多糖羧酸酯。右旋糖苷与相应酸, 在氯乙酸酐中, 70℃, 反应 1h, 制备了可溶于氯仿的、DS 2.9 的右旋糖苷硬脂酸酯和十四(烷)酸酯, 该反应需以高氯酸锰为催化剂^[92]。

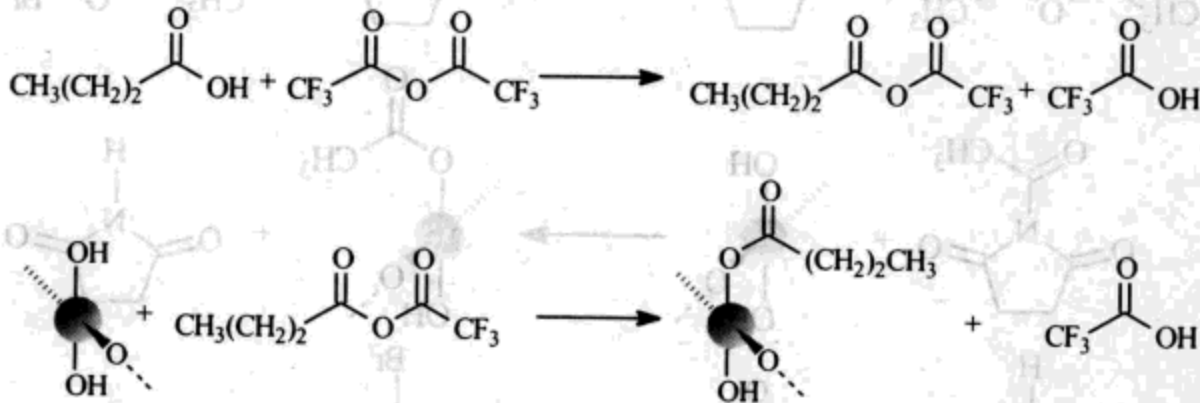


图 4.3 通过混合酸酐进行的多糖酰基化反应 (推进剂法)

采用 TFAA 为推进剂, 高分子链的降解程度明显降低, 产物中没有发现推进剂的酯基, 即三氟乙酰基。纤维素酯化反应的反应活性按如下顺序迅速下降: 乙酸>丙酸>丁酸^[93,94]。

将羧酸与 TFAA 在 50℃下简单混合 20min, 再与干燥纤维素在 50℃下反应 5h, 可以制备高度衍生化的纤维素长链脂肪酸酯^[95], 产物 DS 值和 M_w 如表 4.2 所示。

表 4.2 TFAA 为推进剂所得纤维素长链脂肪酸酯的 DS 和 M_w ^[95]

酯基	碳原子数	DS	$M_w/(\times 10^5 \text{ g/mol})$
乙酸酯	2	2.8	—
丙酸酯	3	3.0	1.48
丁酸酯	4	2.8	1.77
戊酸酯	5	2.8	2.15
己酸酯	6	2.8	2.15
庚酸酯	7	3.0	2.07
辛酸酯	8	2.8	2.03
壬酸酯	9	2.9	3.54
癸酸酯	10	2.9	2.32
月桂酸酯	12	2.9	2.18
十四(烷)酸酯	14	2.9	2.87
棕榈酸酯	16	2.9	3.98
硬脂酸酯	18	2.9	6.91

推进剂法可用于合成完全改性的淀粉乙酸酯和纤维素苯甲酸酯, 如果多糖能完

全溶解于反应混合物，反应则可完全进行（60℃，约 75min 后^[96]）。

N-溴代丁二酰亚胺（NBS）是一种可用于酸酐改性多糖的新型催化剂，NBS 价格不贵、商业可得，对半纤维素与酸酐的酰基化反应，具有很高的催化活性^[97,98]，1 % NBS，80℃反应 2h，DS 可达 1.15。文献 [98] 对反应机理进行了初步探讨（见图 4.4），并对中间体 HBr 的活化作用进行了讨论。

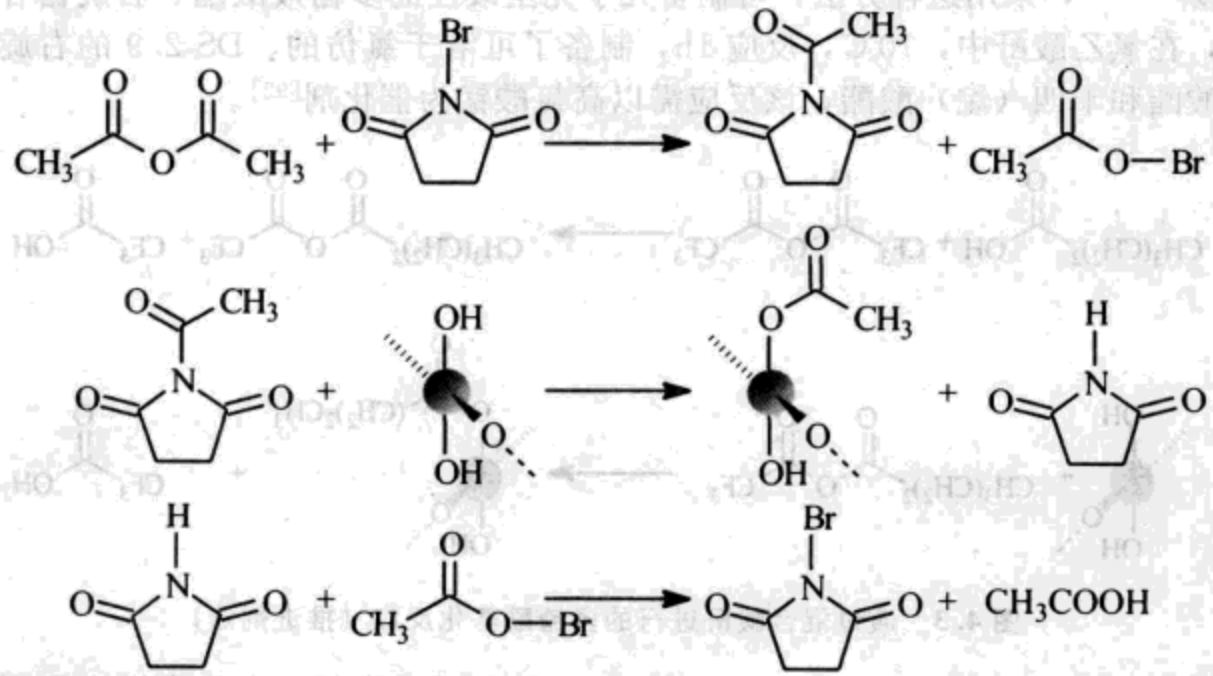


图 4.4 NBS 催化半纤维素乙酰化反应的可能反应机理^[98]

表 4.3 在 DMAc 中，钛（IV）-异丙醇盐催化合成的纤维素长链混合酯^[99]

反应条件				产物	
羧酸酐	酸酐/AGU(摩尔比)	时间/h	温度/℃	DS	M _w /(×10 ³ g/mol)
乙酸/己酸酐	2.0/2.0	9	155	1.91/0.75	164
乙酸/壬酸酐	2.0/2.0	11	145	2.03/0.70	177
乙酸/月桂酸酐	3.5/1.0	12	140	2.40/0.20	295
乙酸/棕榈酸酐	2.0/2.0	12	145	2.06/0.42	125
乙酸/壬酸酐	3.0/1.0	8	145	2.44/0.26	220

钛（IV）-醇盐化合物，如钛（IV）-异丙醇盐，可用作长链脂肪酸酯化反应的催化剂^[99]。研究证明，采用合适的溶剂，钛（IV）-异丙醇盐对制备部分改性的纤维素酯，具有良好的催化活性（见表 4.3）。

4.1.2 碱存在下的非均相反应

在酸催化下，羧酸酐酯化反应会伴随链降解反应，该副反应可用于控制产物的 DP 值，商业纤维素乙酸酯 DP 值一般为 100~360。如果需要抑制降解反应，建议在叔碱中进行酸酐酯化反应，常用叔碱有吡啶和 TEA，碱同时用作浆状介质（伴随多糖溶胀）和酰化反应催化剂。60℃，长时间反应，约 6~10 天，可制备纤维素三乙酸酯。采用上述相同程序，也可制备淀粉三乙酸酯，将反应温度升高到

100℃, 生成淀粉三乙酸酯的时间可缩短至 24h^[100]。添加 DMAP 是增加该体系反应活性的另一个办法, DMAP 可使反应速度提高 10^4 倍, 如此高的催化效率可能与 N-酰基吡啶离子的高稳定性有关, N-酰基吡啶离子在催化循环中起着重要的作用 (见图 4.5)。立体效应、氮取代基的供电子能力以及 DMAP 良好的亲核性能对反应活性均有影响^[101]。

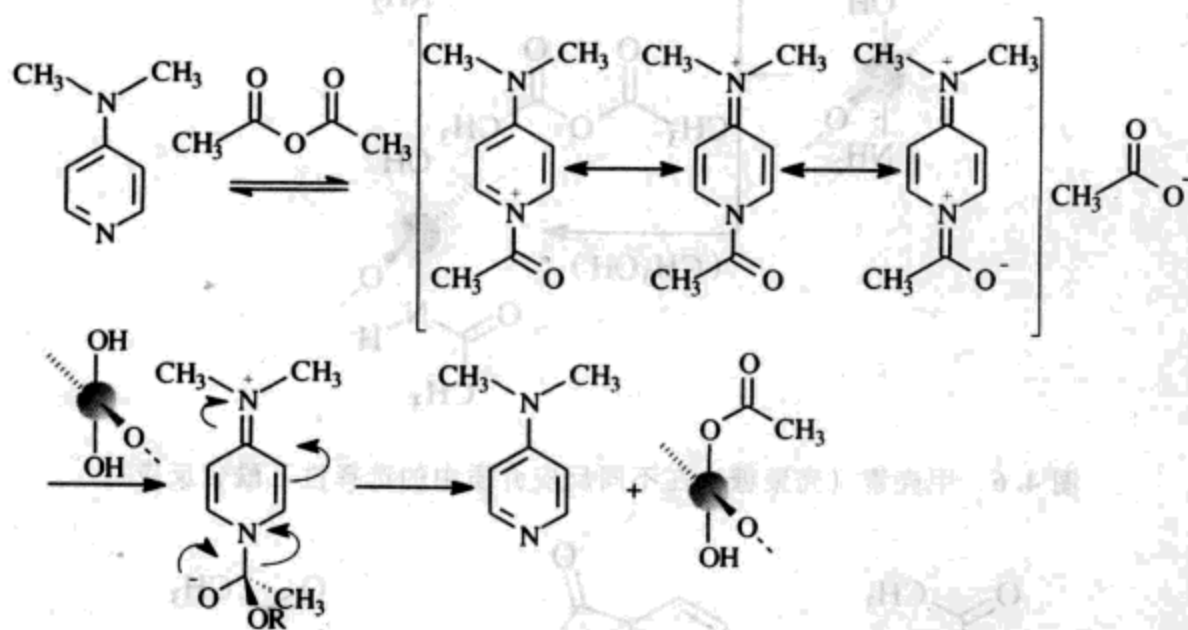


图 4.5 DMAP 的催化机理 (R=多糖骨架^[101])

100℃, 在碱存在下, 非均相反应 2h, 可得普鲁兰全乙酸酯 (糖原上所有 OH 被完全酯化, 见第 2 章)^[102]。50℃, 对甲壳素 (DDA 0.16) 进行类似反应, 所有 OH 和 NH₂ 可在 48h 内被完全乙酰化^[103]; 在甲醇浆状介质中, 甲壳素只发生 N-酰基化反应 (见图 4.6)。

此外, 多糖或其衍生物 (如纤维素乙酸酯) 与二羧酸酐 (如苯酐) 在吡啶中反应, 可引入二羧酸酯基或制备含脂肪酸酯基与二羧酸酯基的混合衍生物 (见图 4.7^[104]), 所得产物具有良好的控释性能 (见第 10 章)。

有趣的是, 纤维素与 N-(邻羧基苯基) 氨基甲酸酐反应, 可得纤维素 2-氨基苯甲酸酯^[105]。类似地, 在 TEA 存在下, 在 DMSO 中或在水/NaOH 中, 可以 N-(邻羧基苯基) 氨基甲酸酐改性淀粉 (见图 5.1)。采用该方法, 可向聚合物分子引入氨基。

对于易溶多糖 (如右旋糖苷、菊粉和凝胶多糖), 实验室规模更适合采用甲酰胺、DMF、DMSO 或水中的均相酯化反应, 这部分内容将在 5.1 讨论。

对引入更复杂的羧酸基团, 如脂肪酸基、脂环基或取代芳香基, 酸酐的反应活性通常不够高, 而且酸酐不溶于有机溶剂, 在这种情况下, 可将酰氯与碱共同使用。全部或部分 (与第二种有机物混用) 以叔碱 (通常为吡啶或 TEA) 为浆状介质, 进行非均相反应, 仍是一种广泛应用的多糖脂肪酸酯制备法。多糖脂肪酸酯是一种很好的热塑性材料, 表 4.4 对这类酯的制备进行了简单总结, 反应产物高度改性, 可溶于非极性溶剂, 如氯仿; 低温下仅能进行部分改性, 所得产物难溶。与 C₂~C₄ 羧酸酯不同, 多糖脂肪酸酯的溶解性不是一个问题, 因为可以对多糖脂肪

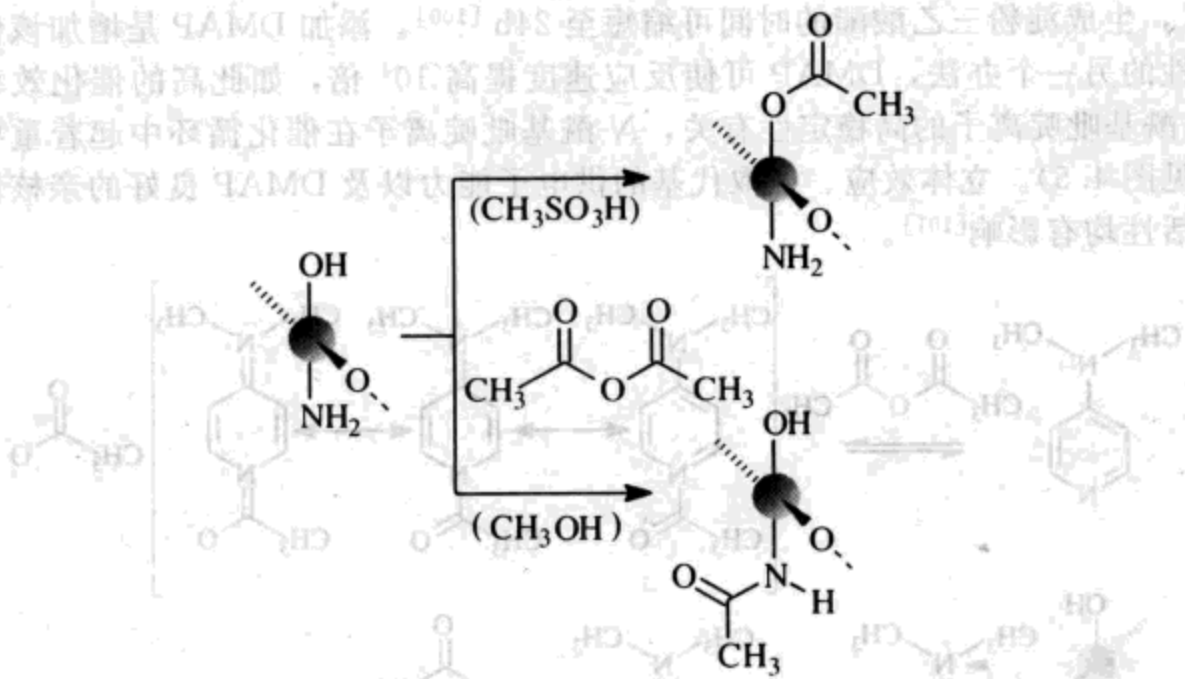


图 4.6 甲壳素（壳聚糖）在不同反应介质中的选择性乙酰化反应

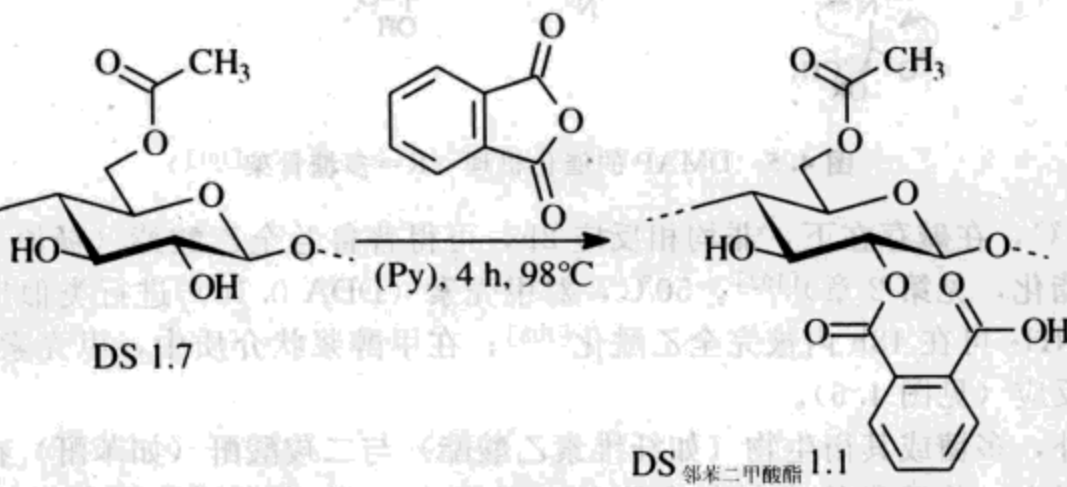


图 4.7 纤维素乙酸邻苯二甲酸混合酯的合成

酸酯进行热加工。反应过程中生成的活性中间体是一种酰基盐（见图 4.8）。

表 4.4 多糖与酰氯在叔碱（Py）中的酯化反应

多糖[参考文献]	羧酰氯	反应条件				产物
		摩尔比		温度/℃	时间/h	
		AGU	酰氯			
淀粉 ^[106]	辛酰氯	1	2.3	105	3	1.8
	辛酰氯	1	4.6	105	3	2.7
	月桂酰氯	1	4.6	105	3	2.7
	硬脂酰氯	1	2.3	105	3	1.8
	硬脂酰氯	1	4.6	105	3	2.7
菊粉 ^[107]	己酰氯	1	3.0	40	24	2.5
	辛酰氯	1	0.5	40	24	0.5
	硬脂酰氯	1	2.0	60	24	1.8
	硬脂酰氯	1	1.0	60	24	0.8

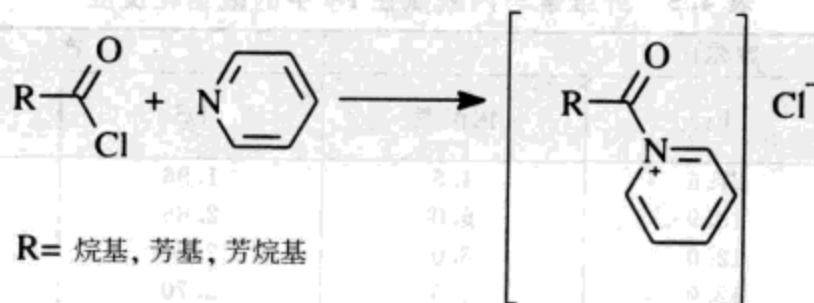


图 4.8 羧酰氯与叔碱 Py 生成的酰基盐

由于存在副反应（主要是缩聚反应），含吡啶的反应混合物和所得的粗产物多呈棕色，通过乙醇洗涤、乙醇索氏抽取，或在乙醇中对氯仿溶液进行再沉淀，可将产物纯化。丙酰化反应可能生成副产物 2-甲基-3-酮基戊酰基多糖，导致所得 DS 值不准确，反应机理如图 4.9 所示^[108]。

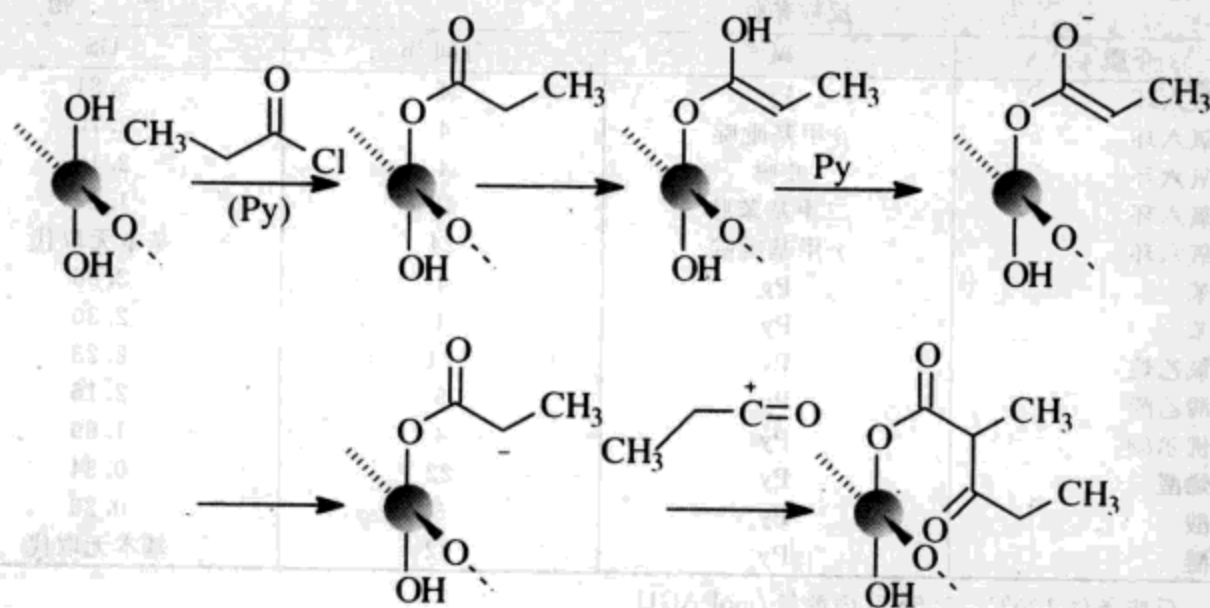


图 4.9 多糖与丙酰氯在 Py 中丙酰化反应过程中生成 2-甲基-3-酮基戊酰基多糖的反应机理^[108]

无碱条件下, 在 DMF 或 DMAc 浆状介质中, 或在 DMAc/LiCl 均相体系中, 酰氯与右旋糖苷、淀粉和纤维素的酰化反应副反应会减少 (见 5.1), 因此, 在无 Py 参与下, 在 DMF 中反应, 可制得纯的纤维素戊酯和纤维素己酯。过量用碱会降低产物的 DS 值, 纤维素与丙酰氯在 Py 中的酰基化反应情况如表 4.5^[109] 所示。

在碱和稀释剂的混合物中, 酰化反应效果也很好, 表 4.6 为纤维素在不同稀释剂和碱参与下的丙酰化反应结果, 结果显示, 吡啶与 1,4-二氧六环、氯苯和甲苯的混合物是很好的浆状介质。

采用上述途径,可有效地对右旋糖苷^[110]、纤维素^[111]和淀粉^[112]进行酰基化改性,反应结果如表 4.7 所示。采用 DMF/Py 混合物,除了可由大豆脂肪酸制备纤维素长链大豆脂肪酯^[118],还可制备高度改性的淀粉棕榈酸酯、硬脂酸酯^[117],DMAP 可增加体系的反应活性,如图 4.5 中酸酐的酰化反应所示。

表 4.5 纤维素与丙酰氯在 Py 中的酰基化反应

摩尔比			产 物	
AGU	Py	丙酰氯	DS	Cl ₂ CHCHCl ₂ 中的溶解性
1	27.6	4.5	1.86	—
1	18.9	6.0	2.66	+
1	12.0	6.0	2.80	+
1	12.0	4.5	2.70	+
1	9.9	9.0	2.13	+
1	7.5	6.0	2.89	+
1	6.0	4.5	2.81	+
1	4.8	4.5	2.86	+
1	3.0	4.5	2.89	+
1	1.5	4.5	2.84	+

注：反应条件 100℃，反应 4h^[109]。

表 4.6 纤维素与丙酰氯在不同稀释剂和叔胺参与下的丙酰化反应

反应条件			产 物
介质	碱	时间/h	DS
二氧六环	Py	4	2.81
二氧六环	β-甲基吡啶	4	2.70
二氧六环	喹啉	4	2.18
二氧六环	二甲基苯胺	48	1.57
二氧六环	γ-甲基吡啶	24	基本无取代
氯苯	Py	4	2.86
甲苯	Py	4	2.30
四氯乙烷	Py	24	2.23
丙酸乙酯	Py	5	2.16
异佛尔酮	Py	4	1.89
丙烯醛	Py	22	0.34
丙酸	Py	5	0.20
丁醚	Py	22	基本无取代

注：反应条件 100℃，1.5mol 丙酰氯/mol AGU。

表 4.7 在含惰性溶剂和 Py 的浆状介质中由羧酰氯合成的多糖酯

多糖	脂肪酸	摩尔比			有机介质	时间/h	温度/℃	DS	参考 文献
		AGU	FACl	Py					
淀粉	丁酸酯	1	4.5	6.2	二氧六环	6	100	>2.8	[113]
淀粉	己酸酯	1	4.5	6.2	二氧六环	6	100	>2.8	[113]
淀粉	戊酸酯	1	4.5	6.2	二氧六环	6	100	>2.8	[113]
淀粉	月桂酸酯	1	4.2	6.3	二氧六环	6	100	2.9	[114]
淀粉	油酸酯	1	3.0	3.0	甲苯	5.5	90	3.0	[115]
淀粉	十四烷酸酯	1	4.5	6.0	甲苯/ 二氧六环	6	100	2.6	[112]
淀粉	棕榈酸酯	1	4.5	6.0	甲苯/ 二氧六环	6	100	2.1	[112]
淀粉	油酸酯	1	4.5	6.0	甲苯/ 二氧六环	6	100	2.7	[112]
纤维素	戊酸酯	1	4.5	1.0	二氧六环	17	80	2.1	[116]
纤维素	己酸酯	1	4.5	1.0	二氧六环	17	80	2.5	[116]
纤维素	辛酸酯	1	4.5	1.0	二氧六环	17	80	2.4	[116]
纤维素	壬酸酯	1	4.5	1.0	二氧六环	17	80	2.4	[116]
右旋糖苷	棕榈酸酯	1	3.0	8.0	甲苯	1.5	105	2.9	[110]

采用相同方法，即在吡啶中以苯甲酰氯改性多糖，也可制备多糖三安息香酸酯和取代苯甲酸酯，但是，目前还没发现这些衍生物具有明显应用价值，仅发现带不饱和侧链的芳香酸酯，如肉桂酸酯，被用于交联和接枝反应（见第 10 章）。

在以 NaOH 水溶液活化多糖后，通过酰氯肖特-鲍曼 (Schotten-Baumann) 反应，也可制备多糖酯，但这种方法现在很少采用。一个更好的新方法是：在升温条件下，用酰氯对纤维素进行酯化改性，反应中采用真空去除反应释放的 HCl^[118]。

此外,在加压下条件下,在小的(60 μ L)不锈钢密封反应器中加热干玉米淀粉、冰乙酸和羧酸酐的混合物,可以得到高DS的淀粉酯,160~180 $^{\circ}$ C,2~10min,可得DS 0.5~2.5的淀粉乙酸酯,转化率接近100%;反应速度随着乙酸浓度增加而增加,而随乙酸酐浓度增加而减慢,120~190 $^{\circ}$ C旋转蒸发可完全脱除样品中剩余的乙酸。在类似条件下,可以制备DS 1.0~1.5的淀粉琥珀酸酯。制备中等DS(约0.5)的辛烯基琥珀酸淀粉酯和十二烯基琥珀酸淀粉酯则需要更长的反应时间(20~60min),但长时间加热会导致产物明显降解^[120]。

对于合成某些具有高商业价值的多糖酯，上述方法是可重复的成熟技术；但是，对合成普通脂肪酸和芳香酸酯，这些方法还存在一定局限性。为了进行多糖酰基化改性，人们正在研究各种各样的新合成途径，本书将在第5章对相关最新研究成果加以介绍。

柱: 聚酰胺中水层, DMSO 洗脱液, 流速: 1.5 ml/min

5 有机酯基导入新方法

借助于新的有机溶剂和多肽化学中的酯化方法,目前已相继开发了许多新的多糖羧酸酯合成方法。新有机溶剂,如 DMSO/LiCl、甲酰胺/LiCl 及 DMF/LiCl 在右旋糖苷、普鲁兰和凝胶多糖改性中的应用,以及 DMAc/LiCl 和 DMSO/TBAF 在纤维素与淀粉改性中的应用,使得脱水剂(如 DCC、CDI)参与下的均相酯化反应变得切实可行。本章将主要基于纤维素乙酸酯的制备,对溶剂和试剂进行讨论,同时也会列举其他酯化反应,让读者了解通过这些新方法所能获得的丰富多样的多糖酯结构。

5.1 均相反应介质

要向多糖导入复杂和敏感酯基,均相体系是必不可少的条件,因为均相反应条件温和、选择性好、反应效率高。与非均相体系不同,在均相体系中可制备易溶的部分取代衍生物,因为均相反应条件可确保对产物 DS 值进行准确控制。此外,与非均相反应不同的是,在均相反应条件下,还可以制得具有新取代方式的已知衍生物。除了能溶解大部分多糖的甲酰胺、DMF、DMSO 和水之外(见表 5.1),目前又开发了一些新的溶剂,尤其是针对具有特殊超分子结构的纤维素的溶剂。

表 5.1 多糖在 DMF、DMSO 和水中的溶解性

多糖	溶解性			
	DMF	DMSO	Py	H ₂ O
纤维素	—	+(TBAF)	—	—
甲壳素	—	—	—	—
淀粉	—	+(80℃)	—	— ^①
支链淀粉	—	+(80℃)	—	+
凝胶多糖	—	+	—	—
裂褶多糖	+(80℃, LiCl)	+	—	—
小核菌葡聚糖	—	—	—	—
普鲁兰	+(80℃)	+	+ ^②	+
木聚糖	+(LiCl)	+	—	—(NaOH)
瓜尔胶	—	—	—	—
海藻酸盐	—	—	—	+
菊粉	+	+	+	+
右旋糖苷	+(LiCl)	+(40℃)	—	+ ^③

① 70℃直链淀粉可溶于水。

② 取决于其来源。

③ 结晶态的右旋糖苷不可溶^[121]。

表 5.2 列出了可用于纤维素乙酰化反应的溶剂，在溶解过程中，破坏了单一多糖链周围高度有序的氢键系统。

表 5.2 纤维素均相乙酰化反应的常用溶剂和试剂

溶剂	乙酰试剂	DS _{max}	参考文献
N-乙基吡啶氯化物	乙酸酐	3	[123]
1-烯丙基-3-甲基咪唑氯盐	乙酸酐	2.7	[124]
N-甲基吗啉-N-氧化物	乙烯基乙酸酯	0.3	[125]
DMAc/LiCl	乙酸酐	3	[126]
	乙酰氯	3	[127]
DMI/LiCl	乙酸酐	1.4	[128]
DMSO/TBAF	乙烯基乙酸酯	2.7	[129]
	乙酸酐	1.2	[27]

尽管近年研究开发了大量不同溶剂^[122]，但仅有极少数溶剂在多糖均相控制酰基化反应中存在潜力，这些溶剂的应用主要受以下原因影响：强毒性；溶剂的高反应活性导致不期望的副反应发生；反应过程中溶解能力下降，生成难以混合的凝胶、糊，甚至从反应介质中沉淀出低反应活性的非溶胀性颗粒。

5.1.1 水相介质

水可以溶解或溶胀表 5.1 里的大部分多糖，因此，水既可以用作均相反应介质，也可以作为浆状介质。在剧烈搅拌下，将少量高度支化淀粉、小核菌葡聚糖、普鲁兰、菊粉和右旋糖苷加入水中，加热混合物至 70~80℃，所得溶液易于进行后续处理。如果低浓度溶液的黏度仍然过高，无法进行反应，尤其是高分子量淀粉、瓜尔胶和海藻酸盐，则有必要采用酸解法或酶解法进行部分降解，如第 12 章中淀粉的改性过程。尽管在通常情况下，水不是酯化反应的最佳介质，但事实上许多多糖酯可在水中制备，淀粉乙酸酯就是在水溶液中由乙酸酐酯化所得，该反应可制备用于医药领域的水溶性淀粉衍生物（DS 0.1~0.6^[130]，见第 10 章）。在稀 NaOH（1mol/L）存在下，酶解淀粉（ M_w 430000g/mol）与乙酸酐在水中反应，制得淀粉乙酸酯；在室温反应时，须逐步向体系加碱，将 pH 控制在 8.0~8.5。在 11% NaOH（质量分数，向体系添加 50% NaOH 溶液）存在下，由过量乙酸酐（4 倍）可制备完全衍生化的玉米或土豆淀粉乙酸酯；反应 3h 后，将反应混合物倒入冰水分离，得 DS 2 的淀粉乙酸酯；延长反应时间（5h），可实现完全改性^[131,132]。将淀粉、相应酸酐和 25% NaOH 在水中混合，0~40℃反应 4h，得 DS 1~2 的淀粉丙酯和淀粉丁酯^[133]。

淀粉甲基丙烯酸酯的合成也有所报道^[134]：以未处理的天然淀粉为反应物，对淀粉和水的混合物进行热处理，进行非均相反应，可过滤分离产物；NaOH 存在下，淀粉与 N-羧基邻氨基苯甲酸酐反应，可制备淀粉 2-氨基安息香酸酯（见图 5.1^[135]）。

在 2.5mol/L NaOH 溶液中，以预胶化淀粉与对应酰氯进行酰基化反应，可制备一系列具有不同羧酸片断（C₆~C₁₀）和中等 DS 的淀粉酯，对淀粉而言，这种方法经济、简单，且碱溶液为反应介质保证了取代的均一性。但是，采用上述反

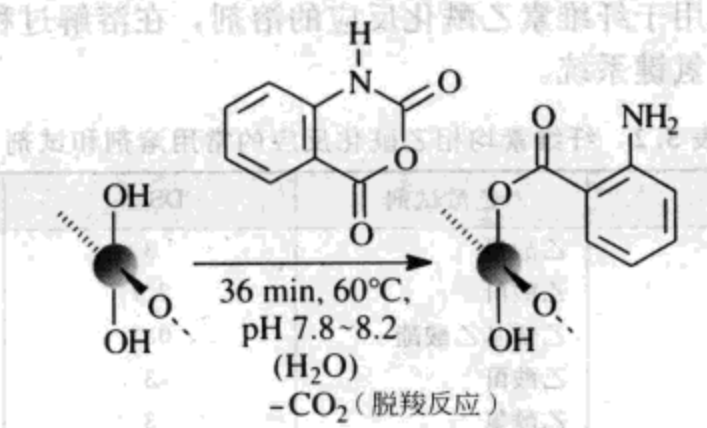


图 5.1 在水相介质中合成淀粉 2-氨基安息香酸酯

应，仅有含 6~10 个碳的酰氯能对多糖进行酰基化改性，DS 与酰氯链长的相关性如图 5.2 所示，FTIR、元素分析和特性黏度测试结果显示，更短 (<C₆) 或更长 (>C₁₀) 的酰氯在上述条件下均不发生反应^[136]。

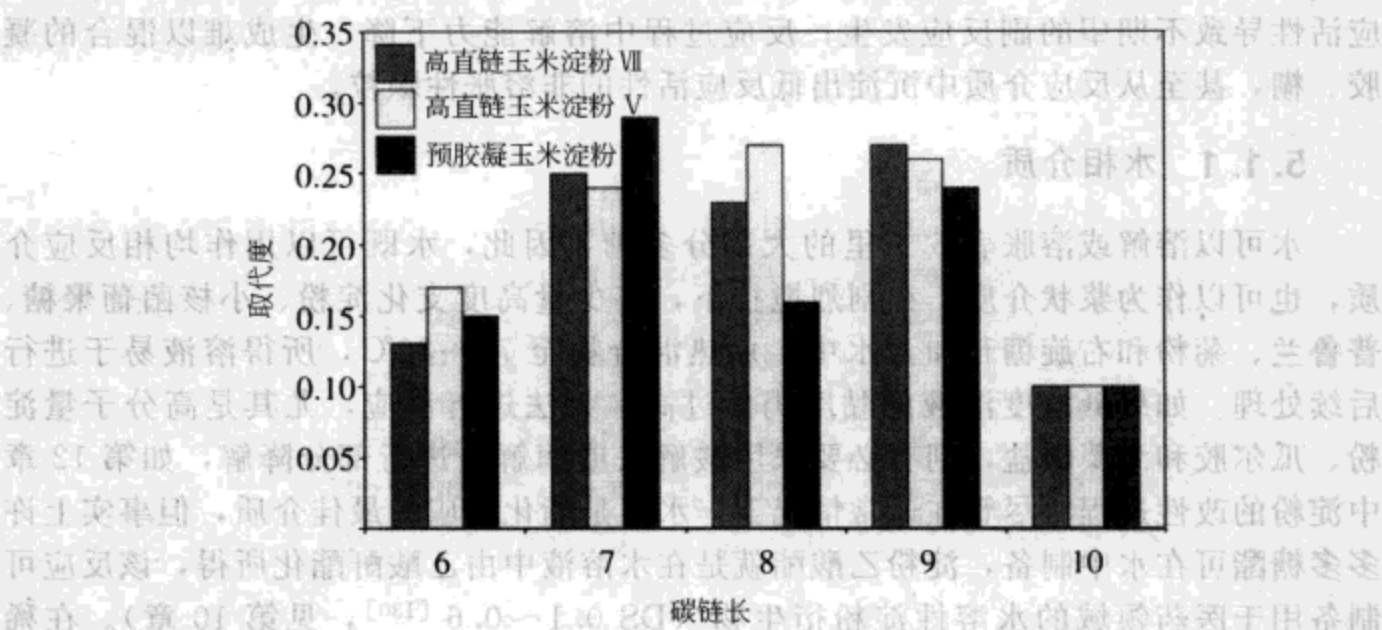


图 5.2 酰氯在水溶液中改性淀粉所得产物的 DS 值以及羧酸链长和淀粉种类的关系 (直链淀粉含量: 70%，高直链玉米淀粉 VII；50%，高直链玉米淀粉 V；1%，预胶凝玉米淀粉^[136])

芳香酰氯，如苯甲酰氯^[137]或酰基咪唑，也可以在水相进行酰基化反应^[138]，咪唑化合物可由羧酸与 CDI 原位合成、或由咪唑与酸酐或酰氯反应生成（见 5.2.3）。淀粉硬脂酸酯也可在水中制备，但产物 DS 很低，产物溶胀性能有所变化（见表 5.3）。

表 5.3 由羧酸咪唑化合物在水中制备的淀粉酯^[138]

酰化剂		pH	时间/h	DS _{酯基}
咪唑化合物	含量①/%			
乙酸	6	8	2.0	0.06
苯甲酸	7	8	2.0	0.05
丙烯酸	7	8	1.8	0.01
硬脂酸	20	9	18.0	0.03

① 指酰化剂与淀粉的质量分数。

在水相介质中也可对半纤维素进行改性，小麦秆半纤维素与琥珀酸酐（琥珀酸酐与 AXU 摩尔比 1:1~1:5）在碱性水溶液中，25~45℃，反应 0.5~16h，得 DS 0.017~0.21 的琥珀酰化产物，在反应过程中，pH 须控制在 8.5~9.0 范围^[139]。

有趣的是，在离子交换树脂存在下，羧酸酐可在水中 对菊粉进行改性，过滤树脂、旋转蒸发脱除溶剂，经分离得到 DS 1.5 的乙酸酯和 DS 0.8 的丙酸酯。从树脂上仅能回收部分多糖，产物收率较低，仅 40%~50%，这明显削弱了原本简单的后处理所具有的优势^[107]。

熔融无机盐水合物作为新的多糖改性溶剂和反应介质受到越来越多的关注，研究发现分子式为 $\text{LiX} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($\text{X}=\text{I}^-$ 、 NO_3^- 、 CH_3COO^- 、 ClO_4^-) 的熔融物可溶解绝大部分多糖，甚至 DP1500 的纤维素^[140~142]。在 $\text{NaSCN}/\text{KSCN}/\text{LiSCN} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 中，130℃，以过量乙酸酐对多糖进行乙酰化改性（见表 5.4），在短时间内（3h），可得 DS 高达 2.4 的产物。相比其他酯化过程，这种反应选择性较差，产物的 X 射线衍射峰很宽，表明产物聚集态极度无序，这种结构使得产物在后续固-固反应，如与其他聚合物的共混反应中，具有很高的反应活性。在熔融盐水合物中制备的纤维素乙酸酯具有无定形的聚集态，故熔点很低。

表 5.4 纤维素与乙酸酐在 $\text{NaSCN}/\text{KSCN}/\text{LiSCN} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 中反应的实验数据及分析结果

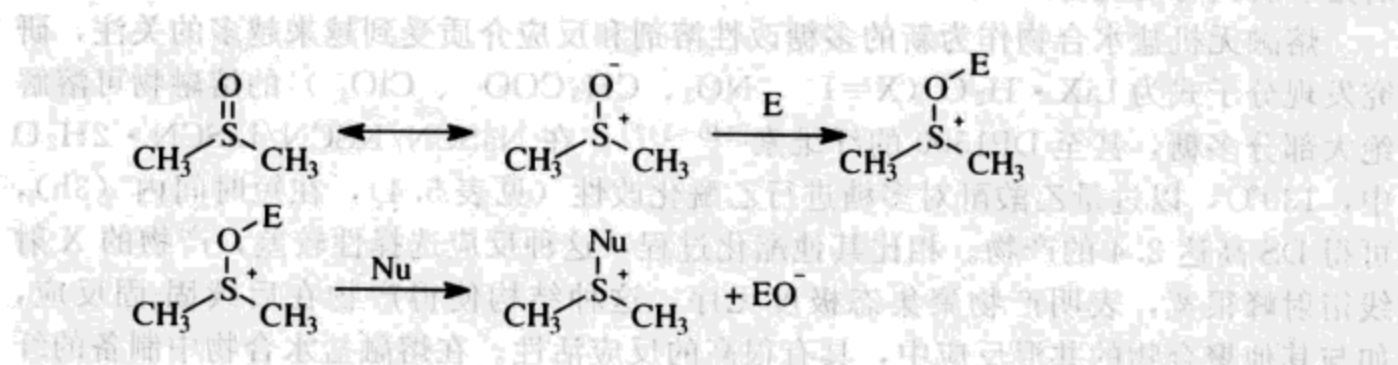
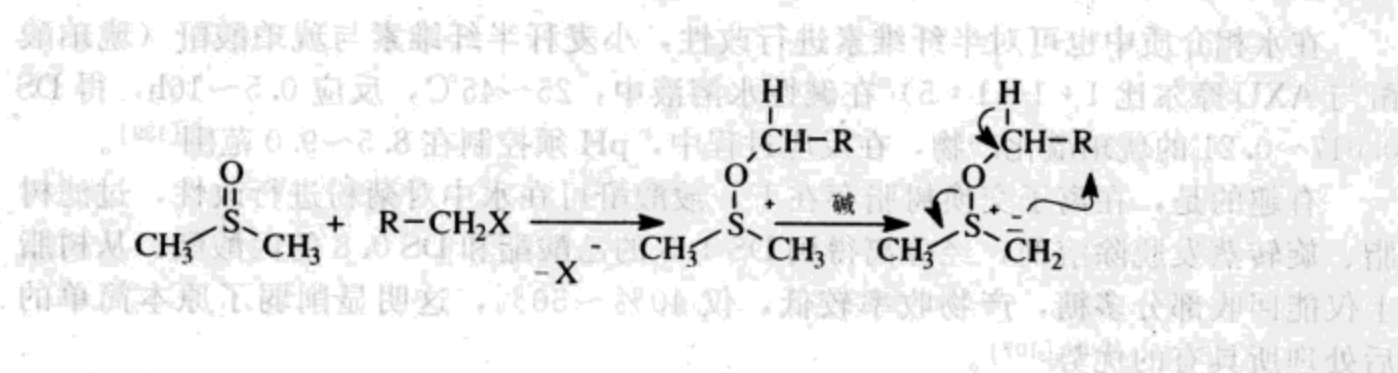
反应条件		部分 DS			Σ
摩尔比		时间/h	O-6	O-2 和 O-3	
AGU	乙酸酐				
1	100	3.0	0.91	1.57	2.41
1	100	1.0	0.86	1.12	1.98
1	100	0.5	0.39	0.85	1.23
1	75	0.5	0.51	0.50	1.02

在多糖普通水相溶剂中，即在 Cuen 或 Nitren 中，试剂水解和酯化反应竞争进行，导致产物收率较低。

5.1.2 非水相溶剂

DMSO 作为溶剂使用非常方便，因为其具有无毒性 [LD_{50} （小鼠口服）= 14500mg/kg] 和高沸点（189℃）的特点，且在简单酯化反应中，如与酸酐的反应，DMSO 是化学惰性的。对于更复杂的反应体系，DMSO 可能起到氧化剂的作用，并发生分解，生成硫化物，如图 5.3 所示。

在实验室里，羧酸酐与多糖 DMSO 溶液在催化剂作用下的反应是最简单的酯化方法。在 DMAP 和 NaHCO_3 催化下，淀粉与丙酸酐可在 DMSO 中反应，制备疏水性多糖^[143]。在 DMAP 催化下，琥珀酸酐在 DMSO 中对普鲁兰的均相琥珀酰化改性反应，是这种方法的又一成功范例，40℃，反应 24h，可得 DS 1 的琥珀酰化普鲁兰，DS 与琥珀酸酐/普鲁兰摩尔比间的关系如图 5.4 所示，NMR 结果显示，反应优先在 6 位进行^[144]。采用类似反应，也可对菊粉和右旋糖苷进行琥珀酰化改性^[145]。



E = 亲电试剂

Nu = 亲核试剂

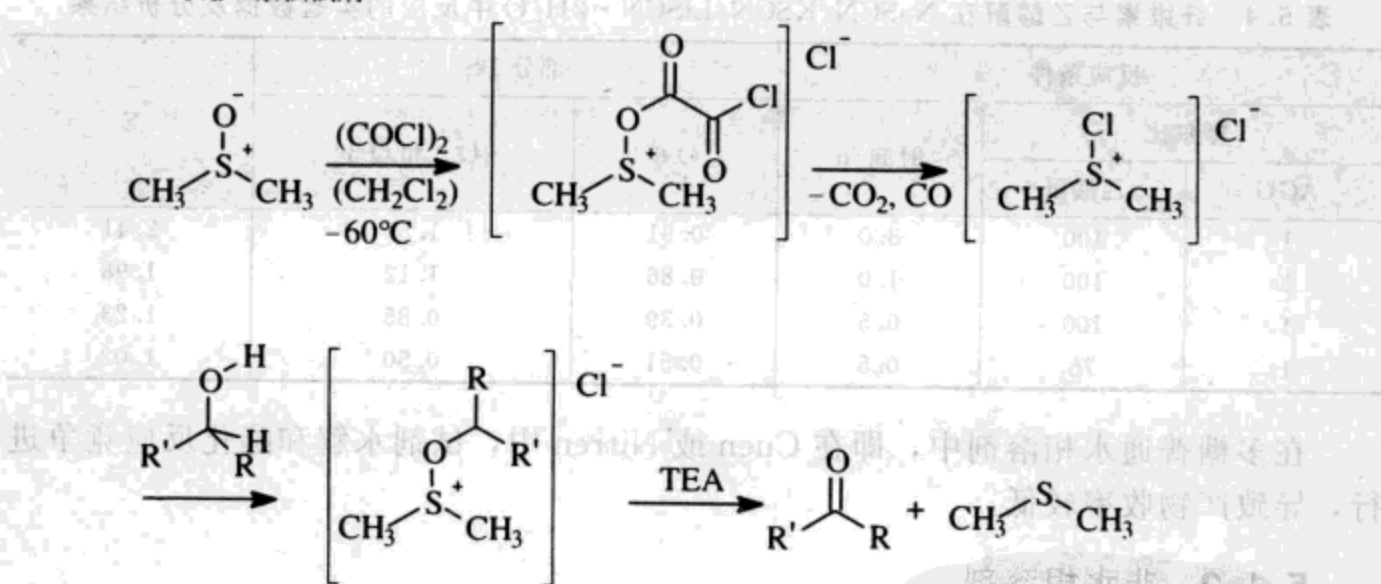


图 5.3 DMSO 参与的氧化反应和斯韦恩 (Swern) 氧化反应的反应机理

(Swern 是最常见的一种 DMSO 氧化反应)

合成高级脂肪酸酯则必须采用羧酰卤为酰化剂, 例如, 45℃右旋糖苷与脂肪酸酰氯 (C₁₀~C₁₄) 在 DMSO 中均相反应 48h, 得 DS 约 0.15 的水溶性酯^[146]。

除可用于葡聚糖改性外, DMSO 还可作为海藻酸盐羧基均相酯化的反应溶剂^[5]。反应中, 多糖首先被转化为酸式, 酸式多糖再被四丁基铵氢氧化物转化为四丁基铵盐, 这些铵盐最后在 DMSO 中被长链烷基溴均相改性 (见图 5.5)。

涉及试剂 TFAA、乙二酰氯、TosCl 或 DCC 的葡聚糖改性应优选在甲酰胺、DMF 或 NMP 中进行, 因为在 DMSO 中会伴随氧化反应, 至少伯羟基会被氧化为醛基。在 DMSO 中进行酯化反应, 会伴随 DCC 副反应 (如 Moffatt 氧化反应),

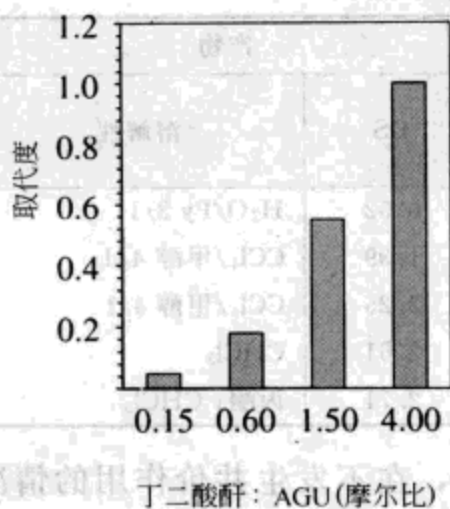


图 5.4 普鲁兰与丁二酸酐在 DMSO 中的酰基化反应
(40℃, 24h, DS 由滴定法测定)

这部分内容将在 5.2.2 详细介绍。作为多糖酯化反应溶剂, 甲酰胺、DMF 和 NMP 也可起到与 DMSO 相同的作用, 例如: 在淀粉的乙酰化反应中, DMF 作为淀粉与脂肪酸反应的溶剂^[147;148], 以甲酰胺为溶剂, 吡啶为碱, 70℃, 反应 48h, 可获得淀粉三琥珀酸酯^[149]。

NMP/甲酰胺是一种特别用于右旋糖苷酯化反应的混合溶剂, 右旋糖苷与脂肪酸酰卤反应, 可得 DS 0.005~0.15 的水溶性右旋糖苷脂肪酸酯(C₁₀~C₁₄)^[146]。在更多情况下, DMF、NMP 和 DMAc 与 LiCl 共同作溶剂使用。

菊粉可以溶于吡啶, 并与酸酐发生均相反应, 获得长链脂肪酸酯, 产物 DS 较低, 约 0.03~0.06^[107]。要获得更高 DS 值, 需采用羧酰氯 (见表 4.4)。

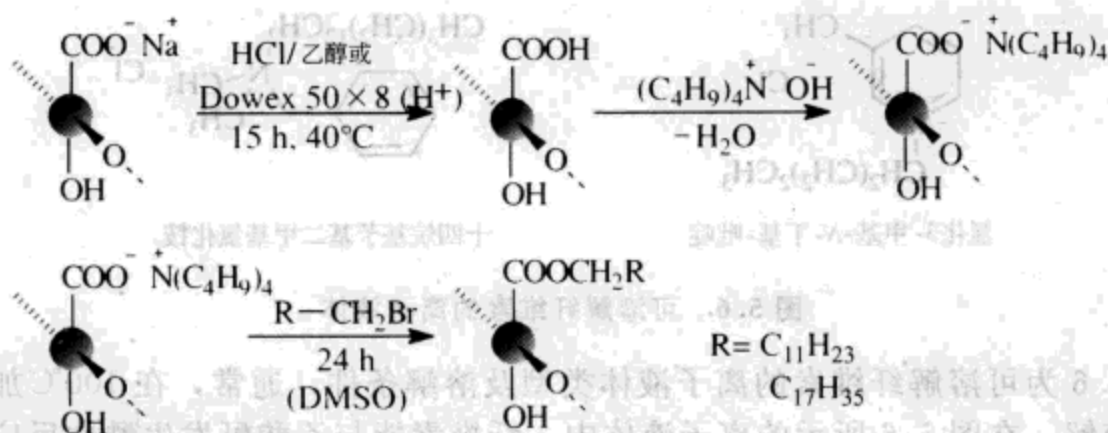


图 5.5 海藻酸盐与长链烷基卤化物的酯化反应^[5]

有机盐熔融物是纤维素酯化反应的又一类单组分溶剂, 尤其是 N-烷基吡啶卤化物, 目前对 N-乙基吡啶氯化物的研究较广泛。反应中常采用普通有机溶剂对盐熔融物进行稀释, 以获得具有合适熔点的反应介质, N-乙基吡啶氯化物 (熔点 118℃) 的常用添加剂有: DMF、DMSO、环丁砜、吡啶和 NMP, 混合物的熔点可达 75℃^[150]。

N-乙基吡啶氯化物可溶解 DP 高达 6500 的纤维素, 在吡啶存在下, 乙酸酐与纤维素在 N-乙基吡啶氯化物中均相反应, 可在较短的反应时间 (44min) 内得到 DS 2.65 的乙酰化产物^[123]。尽管制备纤维素三乙酸酯 (1h 内结束反应) 的反应需在 85℃ 进行, DP 低于 1000 的纤维素没有发生降解, 表明该反应是真正的同型聚合物反应。与非均相反应不同, 在 N-乙基吡啶氯化物中, 通过一步反应即可制备具有特定溶解性 (如在水、丙酮或氯仿中) 的纤维素乙酸酯 (见表 5.5), 采用 ¹H NMR 法对溶解性与取代基分布的相关性进行了初步研究^[151] (见第 8 章)。

表 5.5 在 N-乙基吡啶氯化物中制备纤维素乙酸酯 [132]

反应条件					产物	
摩尔比			温度/℃	时间/min	DS	溶解性
AGU	Py	乙酸酐				
1	16.2	5.4	40	60	0.52	H ₂ O/Py 3/1
1	16.2	5.4	40	295	1.39	CCl ₄ /甲醇 4/1
1	32.5	32.5	50	120	2.25	CCl ₄ /甲醇 4/1
1	32.0	32.0	85	55	2.61	CHCl ₃
1	32.5	32.5	50	285	2.71	丙酮; CHCl ₃

离子液体，尤其是带取代咪唑基离子的离子液体，在不发生共价作用的情况下，可以溶解 DP 范围很宽的纤维素（甚至细菌纤维素）（见图 5.6 [152]）。

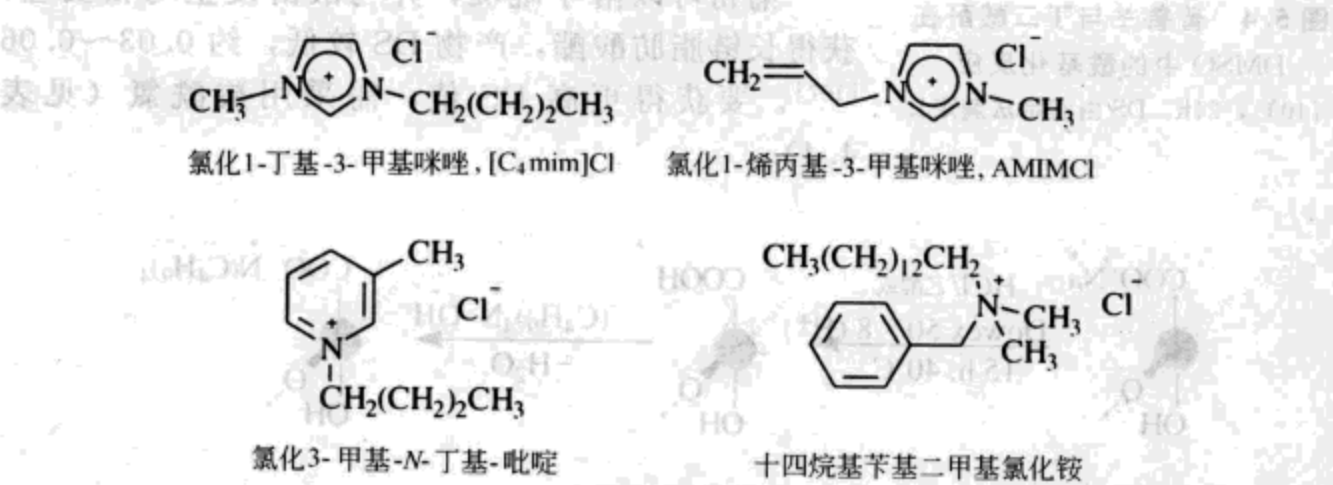


图 5.6 可溶解纤维素的离子液体

表 5.6 为可溶解纤维素的离子液体类型及溶解条件，通常，在 100℃ 加热，多糖发生溶解。在图 5.6 所示的离子液体中，纤维素能与乙酸酐发生酰化反应，而且反应不需添加其他催化剂，所得 DS 大于 1.86 的纤维素乙酸酯均可溶于丙酮[124]，如表 5.7 所示，控制反应时间，可控制产物 DS，乙酰氯可在 20min 内对纤维素进行完全乙酰化改性[153]。目前，还没有在离子液体中进行其他均相酰基化反应的报道。如果能实现离子溶剂的循环利用，这种方法将进一步扩大多糖酰基化反应的应用范围。

表 5.6 纤维素在离子液体中的溶解性 [152]

离子液体	处理方法	溶解性(质量分数)/%
[C ₄ mim]Cl	加热至 100℃	10
[C ₄ mim]Cl	加热至 70℃	3
[C ₄ mim]Cl	加热至 80℃, 超声降解	5
[C ₄ mim]Cl	微波处理	25
[C ₄ mim]Br	微波处理	5~7
[C ₄ mim]SCN	微波处理	5~7
AMIMCl	加热至 100℃	5~10

表 5.7 纤维素在 AMIMCl 中的乙酰化反应

时间/h	DS	溶解性	
		丙酮	氯仿
0.25	0.94	—	—
1.0	1.61	—	—
3.0	1.86	+	—
8.0	2.49	+	+
23.0	2.74	+	+

注：反应条件 4%（质量分数）纤维素，AGU：乙酸酐（摩尔比）1：5，80℃ [124]。

N-甲基吗啉-N-氧化物（NMMO）为纤维素（Lyocell 纤维）纺纱的商业溶剂，也可用作纤维素均相乙酰化反应的溶剂，但所得产物 DS 相对较低[125]。NMMO 一水化合物（含水量约 13%）在约 100℃ 溶解纤维素，所得纤维素溶液与乙酸乙烯

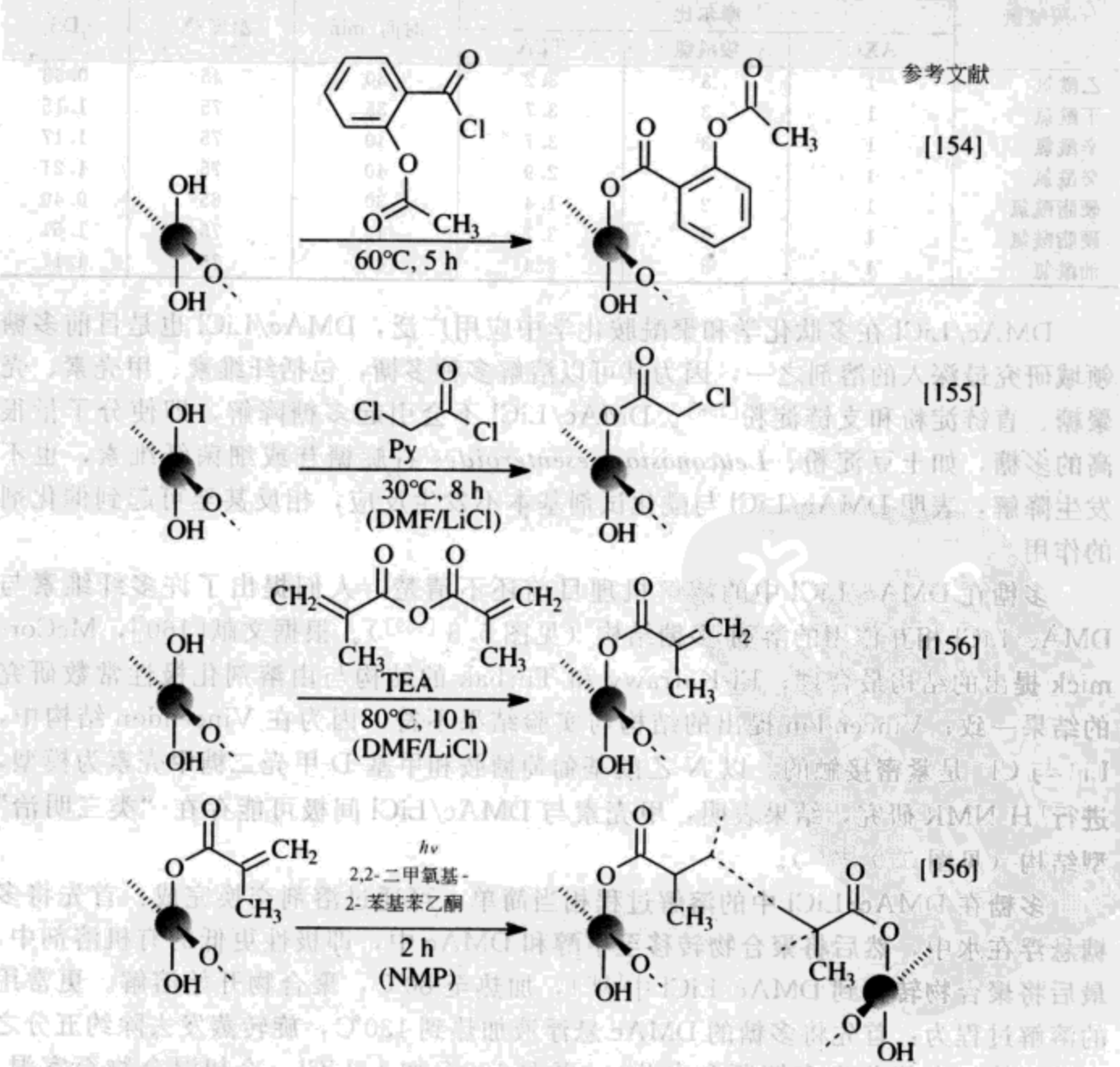


图 5.7 在 DMF/LiCl 中均相合成右旋糖苷酯

酯反应，得 DS 0.3 的产物，反应需采用酶（如 *Bacillus subtilis* 的蛋白酶 N）为催化剂。

5.1.3 多组分溶剂

种类最多的多组分溶剂是极性非质子溶剂和盐的混合物，其中，取代氨基化合物/LiCl 体系应用最广。加热至 90 ~ 100℃，上述葡聚糖绝大部分易溶于 DMF/LiCl，右旋糖苷和木聚糖的溶解性最好。许多多糖改性反应可在 DMF/LiCl 中进行，如图 5.7 所示。

以 TEA/DMAP 为碱和催化剂，在 DMF/LiCl 中，脂肪酸酰氯可在温和的反应条件下均相改性疏水性木聚糖（见表 5.8^[157]）。

表 5.8 木聚糖与羧酰氯的酯化反应

羧酰氯	反应条件				产物	
	摩尔比			时间/min	温度/℃	DS
	AXU	羧酰氯	TEA			
乙酰氯	1	3	3.2	30	45	0.63
丁酰氯	1	3	3.7	35	75	1.15
辛酰氯	1	3	3.7	40	75	1.17
癸酰氯	1	3	2.9	40	75	1.21
硬脂酰氯	1	2	1.4	30	65	0.40
硬脂酰氯	1	3	3.7	45	75	1.51
油酰氯	1	3	2.4	40	75	1.17

DMAc/LiCl 在多肽化学和聚酰胺化学中应用广泛，DMAc/LiCl 也是目前多糖领域研究最深入的溶剂之一，因为其可以溶解多种多糖，包括纤维素、甲壳素、壳聚糖、直链淀粉和支链淀粉^[158]。DMAc/LiCl 不会引起多糖降解，即使分子量很高的多糖，如土豆淀粉、*Leuconostocmesenteroides* 右旋糖苷或细菌纤维素，也不发生降解，表明 DMAc/LiCl 与酰化试剂基本不发生反应，相反甚至可起到催化剂的作用。

多糖在 DMAc/LiCl 中的溶解机理目前还不清楚，人们提出了许多纤维素与 DMAc/LiCl 相互作用的溶剂-多糖结构（见图 5.8^[159]）。根据文献^[160]，McCormick 提出的结构最合理；El-Kafrawy 和 Turbak 的结构与由溶剂化极性常数研究的结果一致；Vincendon 提出的结构与实验结果不符，因为在 Vincendon 结构中，Li⁺ 与 Cl⁻ 是紧密接触的。以 N-乙酰基葡萄糖胺和甲基-D-甲壳二糖甲壳素为模型，进行¹H NMR 研究，结果表明，甲壳素与 DMAc/LiCl 间极可能存在“类三明治”型结构（见图 5.9^[161]）。

多糖在 DMAc/LiCl 中的溶解过程相当简单，可通过溶剂交换完成：首先将多糖悬浮在水中，然后将聚合物转移至甲醇和 DMAc 中，即极性更低的有机溶剂中，最后将聚合物转移到 DMAc/LiCl 中^[162]，加热至 80℃，聚合物开始溶解。更常用的溶解过程为：首先将多糖的 DMAc 悬浮液加热到 130℃，旋转蒸发去除约五分之一的液体（大部分为多糖所含水分），再在 100℃ 加入 LiCl，冷却混合物至室温，最后得到清澈的溶液。多糖在混合溶剂中的溶解度随 DP 而不同，约 2% ~ 12%

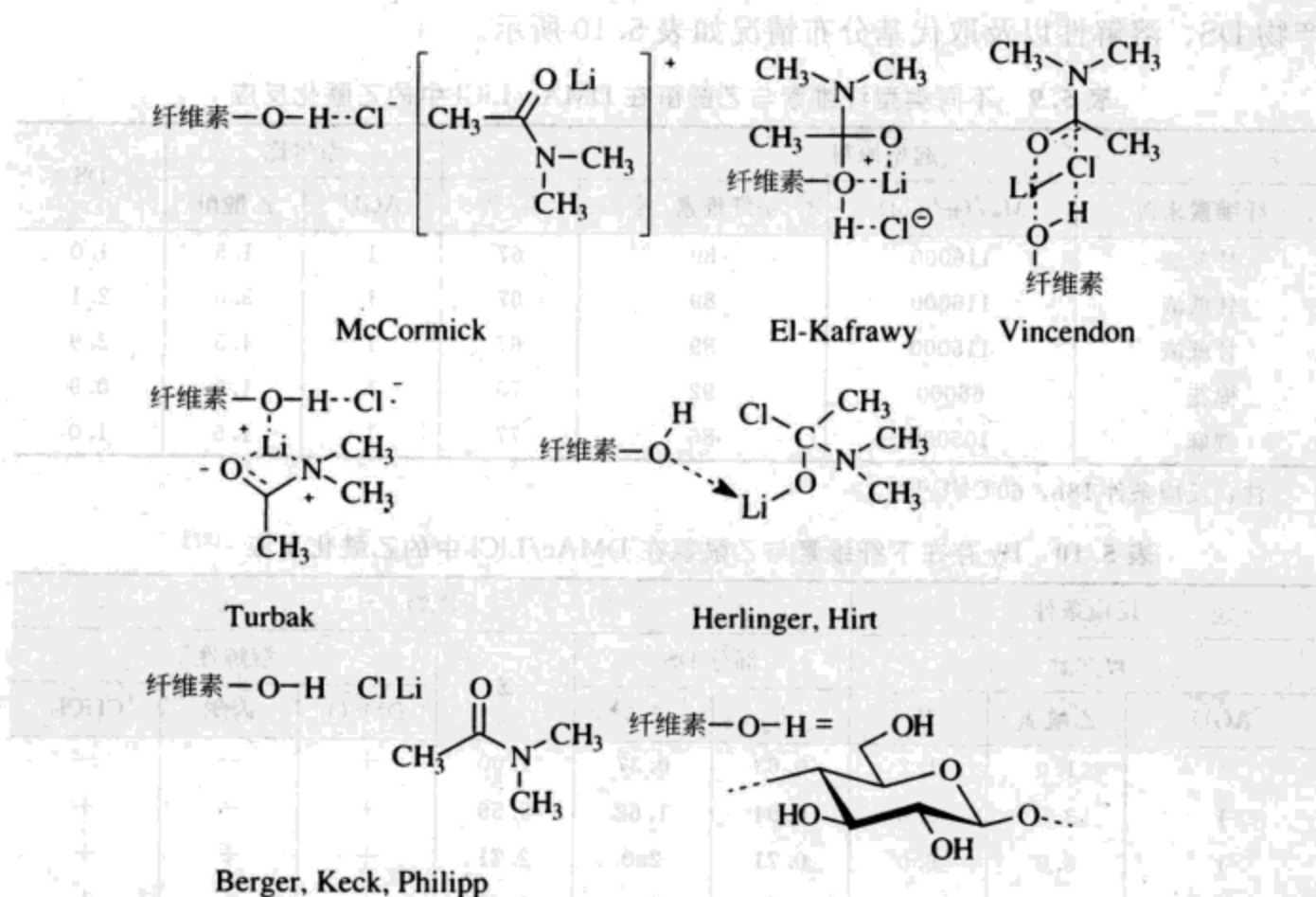


图 5.8 纤维素在 DMAc/LiCl 中的可能结构 [26,160]

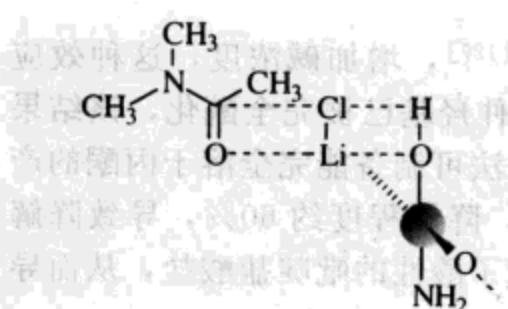


图 5.9 甲壳素与 DMAc/LiCl 的可能作用方式 (以 GlcNAc 为模型)

(质量分数, 下同), LiCl 用量约 5%~15%, 在化学改性中 (见实验部分), 常采用 2.5% 多糖、7.5% LiCl。

对于均相合成具有特定结构的复杂多糖酯, 多组分溶剂是最有用的工具之一, 这部分内容将在后面羧酸原位活化反应和酯交换反应中加以介绍。在 DMAc/LiCl 中进行均相酰基化反应存在反应效率高、无需外加催化剂、溶剂可完全回收等优点, 因此, 在 DMAc/LiCl 中改性多糖, 尤

其是纤维素, 能直接得到易后续加工 (溶剂可溶或熔融可流动) 的纤维素酯。

近几年, 人们对纤维素/DMAc/LiCl 体系进行了广泛研究, 以期开发高效甚至可工业化应用的方法^[163,164]。在 DMAc/LiCl 中进行纤维素溶解和酰基化改性, 可将 DS 很好地控制在 1~3。在减压条件下, 对纤维素热活化远比高成本、长耗时的溶剂交换活化法要好, 在无外加碱或催化剂的条件下, 110℃ 反应 4h, 产物高分子链基本不存在降解问题,¹³C NMR 检测显示, 取代基分布为: C-6 > C-2 > C-3。除了微晶纤维素, 棉、剑麻、甘蔗渣纤维素均可作为反应物 (见表 5.9), 反应物的结晶度对均相酰基化反应基本没有影响。

羧酰氯改性纤维素的反应也具有类似反应效率, McCormick 和 Callais^[162] 最早以乙酰氯与吡啶共同参与反应, 制备了 DS 2.4 的纤维素乙酸酯, 该酯可溶于丙酮,

产物 DS、溶解性以及取代基分布情况如表 5.10 所示。

表 5.9 不同类型纤维素与乙酸酐在 DMAc/LiCl 中的乙酰化反应

起始原料				摩尔比		DS
纤维素来源	$M_w/(g/mol)$	α -纤维素/%	$I_c/\%$	AGU	乙酸酐	
甘蔗渣	116000	89	67	1	1.5	1.0
甘蔗渣	116000	89	67	1	3.0	2.1
甘蔗渣	116000	89	67	1	4.5	2.9
棉花	66000	92	75	1	1.5	0.9
剑麻	105000	86	77	1	1.5	1.0

注：反应条件 18h, 60℃^[163,164]。

表 5.10 Py 存在下纤维素与乙酰氯在 DMAc/LiCl 中的乙酰化反应^[127]

反应条件			产物					
摩尔比			部分 DS		Σ	溶解性 ^①		
AGU	乙酰氯	Py	6	2,3		DMSO	丙酮	CHCl ₃
1	1.0	1.2	0.63	0.37	1.00	+	—	—
1	3.0	3.6	0.94	1.62	2.56	+	—	+
1	5.0	6.0	0.71	2.0	2.71	+	+	+
1	5.0	10.0	0.46	2.0	2.46	+	+	+
1	4.5	—	1.00	1.94	2.94	+	—	—

① + 可溶；— 不可溶。

¹H NMR 分析显示，仲羟基的取代度相对较高^[127]，增加碱浓度，这种效应更明显，总 DS 2.46 的产物，6 位 DS 为 0.46，表明仲羟基已被完全酰化，该结果首次暗示了脱乙酰化反应优先在 6 位进行。由这种方法可制备能完全溶于丙酮的产物，但 GPC 结果显示，酰化反应伴随明显降解反应，降解程度约 60%，导致降解和上述改性方式的可能原因是在碱催化反应中，生成了酸性的吡啶盐酸盐，从而导致降解。

令人惊奇的是，在无外加碱的条件下，乙酰氯与溶于 DMAc/LiCl 的纤维素几乎可完全反应，控制反应条件，反应可定量进行（见表 5.10）。与吡啶参与的反应相比，产物 DS 更高，且反应优先发生在伯位，但产物不溶于丙酮，这表明产物的溶解性由 AGU 上的取代方式决定。GPC 结果显示，没有碱参与，反应降解程度明显下降，以 Avicel 为反应物，产物降解程度不到 2%。全甲基化、降解和 HPLC 分析结果显示，取代基在聚合物链上不存在非统计分布（见 8.4.2）。

酰氯与葡聚糖在 DMAc/LiCl 中的均相反应，是制备易溶的、部分改性的长链脂肪酸酯和取代乙酸酯的最佳方法（见表 5.11），与酸酐不同，脂肪酸酰氯可溶于反应混合物，因此可非常高效地合成极易溶的多糖酯，甚至纤维素十八烷酸酯的 DS 值也可达 0.79。

类似地，在 DMAc/LiCl 中也可均相制备淀粉和甲壳素酯（见表 5.12），淀粉琥珀酸酯和淀粉脂肪酸酯收率几乎定量^[139,166]。

表 5.11 DMAc/LiCl 中制备纤维素脂肪酸酯

反应条件						产 物		
羧酰氯	摩尔比		碱	时间/h	温度/℃	DS	溶解性	参考文献
	AGU	酰化剂						
己酰氯	1	1.0	Py	0.5	60	0.89	DMSO,NMP,Py	[99]
己酰氯	1	2.0	Py	0.5	60	1.70	丙酮, MEK, CHCl ₃ , AcOH, THF,DMSO,NMP,Py	
十二烷酰氯	1	2.0	Py	0.5	60	1.83	Py	
硬脂酰氯	1	1.0	Py	1	105	0.79	丙酮, MEK, CHCl ₃ , AcOH, THF,DMSO,NMP,Py	[162]
己酰氯	1	8.0	TEA	8	25	2.8	DMF	
庚酰氯	1	8.0	TEA	8	25	2.4	甲苯	
辛酰氯	1	8.0	TEA	8	25	2.2	甲苯	
苯乙酰氯	1	15.0	Py	3/1.5	80/120	1.90	CH ₂ Cl ₂	[165]
4-甲氧基苯乙酰氯	1	15.0	Py	3/1.5	80/120	1.8	CH ₂ Cl ₂	
4-甲基苯乙酰氯	1	15.0	Py	3/1.5	80/120	1.8	CH ₂ Cl ₂	
乙酰氯	1	15.0	Py	3/1.5	80/120	1.8	CH ₂ Cl ₂	

表 5.12 淀粉和甲壳素在 DMAc/LiCl 中的均相酯化反应 (以 Py 为碱)

多糖	羧酰氯	反应条件				产物	参考文献
		摩尔比 ^①		温度/℃	时间/h	DS	
		RU	羧酰氯				
甲壳素	乙酰氯	1	54	110	2	2.0	[167]
	4-氯丁酰氯	1	50	80	3	2.0	[167]
	苯甲酰氯	1	48	80	3	1.0	[167]
淀粉	辛酰氯	1	1.5	80	0.5	1.5	[166]
	十四烷酰氯	1	4.5	6	100	2.69	[168]
	硬脂酰氯	1	4.5	6	100	2.17	[168]
	棕榈酰氯	1	1.5	80	0.5	1.5	[166]

除了脂肪酸酯，还可制备不同脂环族、芳香和杂环酯，如图 5.10 所示。除了 DMAc/LiCl，还有许多其他组成的混合溶剂，NMP、DMF、DMSO、N-甲基吡啶或 HMPA 可替代 DMAc，但只有在 NMP-DMAc 的环类似物中，多糖在溶解过程中不发生明显降解。此外，DMI/LiCl 也是一种好的纤维素溶剂^[128]，DMI 商业可得，且存在热稳定和无毒的优点，通过加热活化或逐步溶剂交换，2%~10%（质量分数）、DP 1200 的纤维素可溶于 DMI/LiCl。纤维素在 DMI/LiCl 和 DMAc/LiCl 溶液中的¹³C NMR 谱图化学位移完全一致，说明纤维素与这两种溶剂的作用方式完全相同。以乙酸酐/吡啶在 DMI/LiCl 中改性纤维素，得可溶、部分取代的纤维素乙酸酯（DS 1.4）。纤维素与顺-9-辛酰乙烯酮在 DMI/LiCl 中反应，得 DS 2.1 的 β-酮酯^[173]。

参考文献

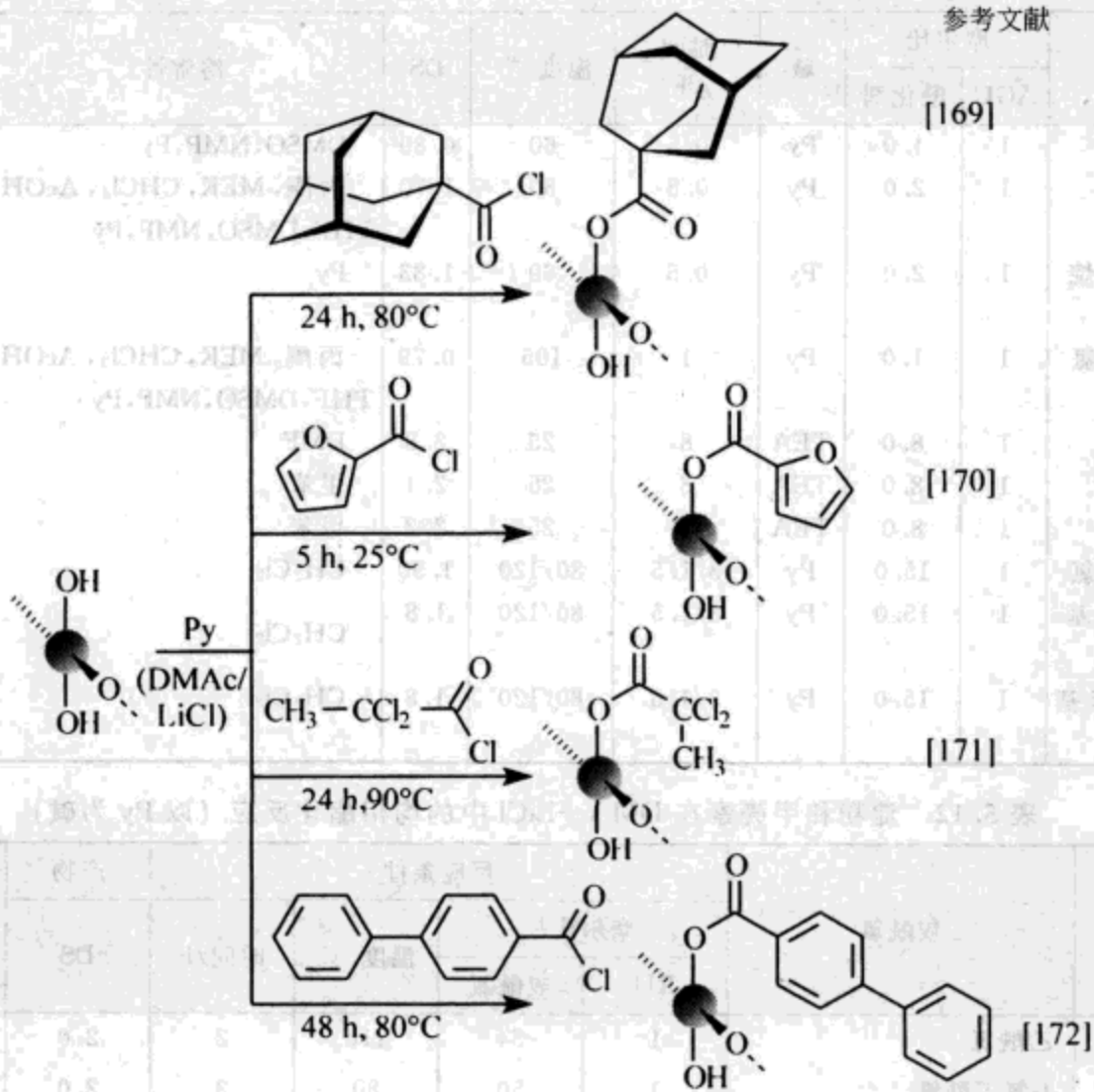


图 5.10 在 DMAc/LiCl 中均相合成金刚烷甲酰纤维素
2-呋喃甲酰纤维素、2,2-二氯丙酰纤维素和
4-苯基苯甲酰纤维素

DMSO/TBAF 也是一种非常有用的混合溶剂，在没有任何预处理的情况下，在 DMSO/TBAF 中，DP 650 纤维素可在 15min 内完全溶解^[27]，纤维素的高分辨¹³C NMR 谱中存在 AGU 的所有环碳信号： $\delta 102.7$ (C-1)、 $\delta 78.4$ (C-4)、 $\delta 75.6$ (C-5)、 $\delta 75$ (C-3)、 $\delta 73.5$ (C-2) 和 $\delta 59.9$ (C-6)，表明在溶解过程中无共价键生成 (见图 2.1)。复杂羧酸在原位活化后，可通过酯交换反应进行多糖均相酯化反应，对于该反应，DMSO/TBAF 也是一种有效的溶剂 (见 5.2)。

在 DMSO/TBAF 中，酰氯和酸酐与多糖的酰基化反应存在一定局限性，因为溶液中存在部分来源于商业 TBAF 三水合物和空气干燥多糖的水分。但是，木素纤维物质 (如剑麻纤维素，其中含有 14% 半纤维素) 的酰基化反应效果却很显著^[129]；剑麻和乙酸酐在 DMSO/TBAF 中反应，当 TBAF 浓度为 6%~13% 时，纤维素乙酸酯的 DS 值随 TBAF 浓度增加而降低 (见表 5.13)，这主要是因为随 TBAF 浓度增加，酸酐和酯基的水解速度均增加。

表 5.13 TBAF 三水合物用量对剑麻纤维素与乙酰酐在 DMSO/TBAF 中的乙酰化反应的影响^[129]

TBAF 在 DMSO 的浓度/%	纤维素乙酸酯	
	DS	溶解性
11	0.30	不可溶
8	0.96	DMSO, Py
7	1.07	DMSO, Py
6	1.29	DMSO, DMF, Py

真空蒸馏可脱除 DMSO/TBAF 所带水分, 纤维素在脱水溶剂中反应, 可得到与无水 DMAc/LiCl 中相同的产物。除了上述基础研究, 在 DMSO/TBAF 中, 还进行了纤维素与复杂羧酸(如呋喃甲酰羧酸)的 CDI 原位活化改性反应, 以及与环状物质如内酯和 *N*-羧基- α -氨基酸的反应(见 5.2.3)。尽管 DMSO/TBAF 还没有被用于其他多糖改性, 在多糖改性时, 大家可以考虑采用这种混合溶剂, 因为对于实验室规模制备易溶的纯多糖酯, DMSO/TBAF 还是简单易用的。

众所周知, TBAF $\cdot$ 3H₂O 脱水会发生降解, 生成 $[\text{HF}_2]^-$ ^[174], $[\text{HF}_2]^-$ 不能与 DMSO 共同溶解纤维素。最近研究发现, 以氰化物亲核取代六氟苯, 可以制备无水 TBAF(见图 5.11^[175])。纤维素在 DMSO/TBAF 中的研究成果开启了纤维素在混合试剂中均相反应的新篇章^[176]。

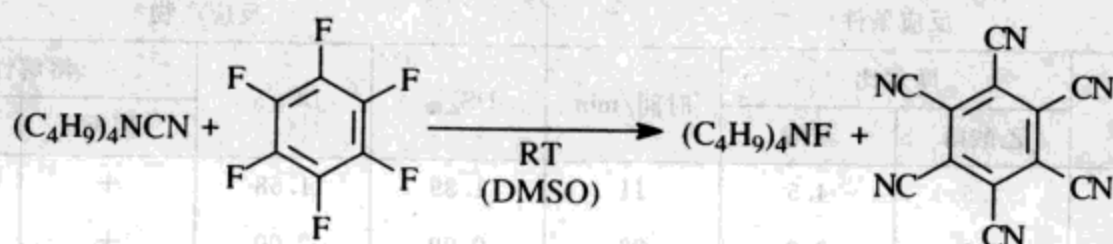


图 5.11 由 DMSO/TBAF 制备无水纤维素溶剂四丁基氟化铵

除了 DMSO/TBAF, DMSO 与四乙基铵氯化物的混合物也可用于纤维素改性^[176], 但要完全溶解纤维素, 盐浓度需达到 25% (质量分数)。与 DMSO/TBAF 相比, 在 DMSO/四乙基铵氯化物中, 纤维素的反应活性较低。此外, DMSO/LiCl 也被用于凝胶多糖的硫酸化反应^[177]。

5.1.4 可溶性多糖中间体

室温下, 甲酸和三氟乙酸可溶解淀粉^[178]、瓜尔胶^[179]、甲壳素和纤维素^[64,180], 因高级结构、预处理和 DP 不同, 有的多糖还可在无共溶剂或催化剂的情况下发生溶解, 溶解过程中, 多糖被部分酯化, 产物酯溶于溶剂, 因此, 这类溶剂被称为改性溶剂。¹³C NMR 检测显示, 酯化反应优先发生在伯羟基上, 因此, 产物仲羟基的酯化反应更明显。

在无催化剂参与下, 将纤维素(再生纤维素、人造纤维、玻璃纸)置于过量甲酸中, 4~15 天后, 纤维素发生溶解^[180]; 添加硫酸为催化剂, 溶解速度明显加快, 但聚合物降解明显。支链淀粉和瓜尔胶在甲酸(90%, 质量分数)中溶解更

快，24h 内基本完全溶解^[181]。淀粉甲酸溶液可直接用于制备长链淀粉酯（C₈~C₁₈），反应通常以脂肪酸酰氯为酰化剂，在吡啶存在下进行（见表 5.14^[182]）。

表 5.14 在甲酸中制备的淀粉脂肪酸酯

酯基	DS	酯基	DS	酯基	DS
月桂酸酯	1.7	辛酯	1.7	棕榈酸酯	1.1
豆蔻酸酯	1.3	癸酯	1.6	硬脂酸酯	0.8

注：反应条件 AGU/脂肪酸酰氯/Py（摩尔比）1：6：4.3，105℃，40min^[182]。

溶于 TFA 的纤维素也可与酸酐或酰氯发生酰基化反应^[183]，有趣的是，在乙酸酐存在下，以羧酸（C₂~C₉）处理纤维素 TFA 溶液，可发生均相酰基化反应，反应剂为迅速生成的混合酸酐，产物为完全衍生化的混合酯，产物溶解性好（见表 5.15^[184]）。

对于纤维素和淀粉，可分离中间生成的酯（或过渡态衍生物），并在惰性有机溶剂中进行后续酯化反应。以硫酸为催化剂（见第 12 章），或以部分水解的 POCl₃ 为溶胀剂和脱水剂，在甲酸中可制备 DS 2.5 的纤维素甲酸酯，该酯溶于 DMSO、DMF 和吡啶^[185~187]中。

表 5.15 在 TFA 中由乙酰酐/羧酸制备纤维素混合酯^[184]

反应条件				反应产物			
羧酸	摩尔比		时间/min	DS _{乙酰}	DS _{羧基}	溶解性	
	乙酸酐	羧酸				丙酮	苯
丙酸	4.5	4.5	11	1.39	1.58	+	+
丙酸	4.5	9.0	20	0.99	2.00	+	+
丙酸	4.5	13.5	35	0.80	2.20	+	+
丁酸	4.5	4.5	11	1.37	1.60	+	+
丁酸	4.5	9.0	22	0.96	2.04	+	+
丁酸	4.5	13.5	35	0.75	2.25	+	+
己酸	4.5	4.5	12	1.31	1.64	+	+
己酸	4.5	9.0	30	1.03	1.97	+	—
己酸	4.5	13.5	52	0.88	2.12	+	—

纤维素与 TFA 和 TFAA 的混合物反应，很容易制得纯的纤维素三氟乙酸酯（CTFA，DS 1.5），该酯可溶于 DMSO、吡啶和 DMF^[188]。玉米淀粉或直链淀粉在 90%甲酸（1g/10mL）中溶解 2~5h，再在甲醇中沉降，得淀粉甲酸酯和直链淀粉甲酸酯^[178]。根据多糖反应中间体的¹³C NMR 谱，反应优先在伯羟基进行，如图 5.12 所示。

采用 DMF 为溶剂，以羧酰氯对多糖中间体进一步进行均相酰基化改性，所得产物具有特殊的取代方式，羧酰氯与 CTFA（DS 1.50）在 40℃反应 4h，水中沉淀，得可溶的纯纤维素酯（不含三氟乙酰基，见表 5.16）。

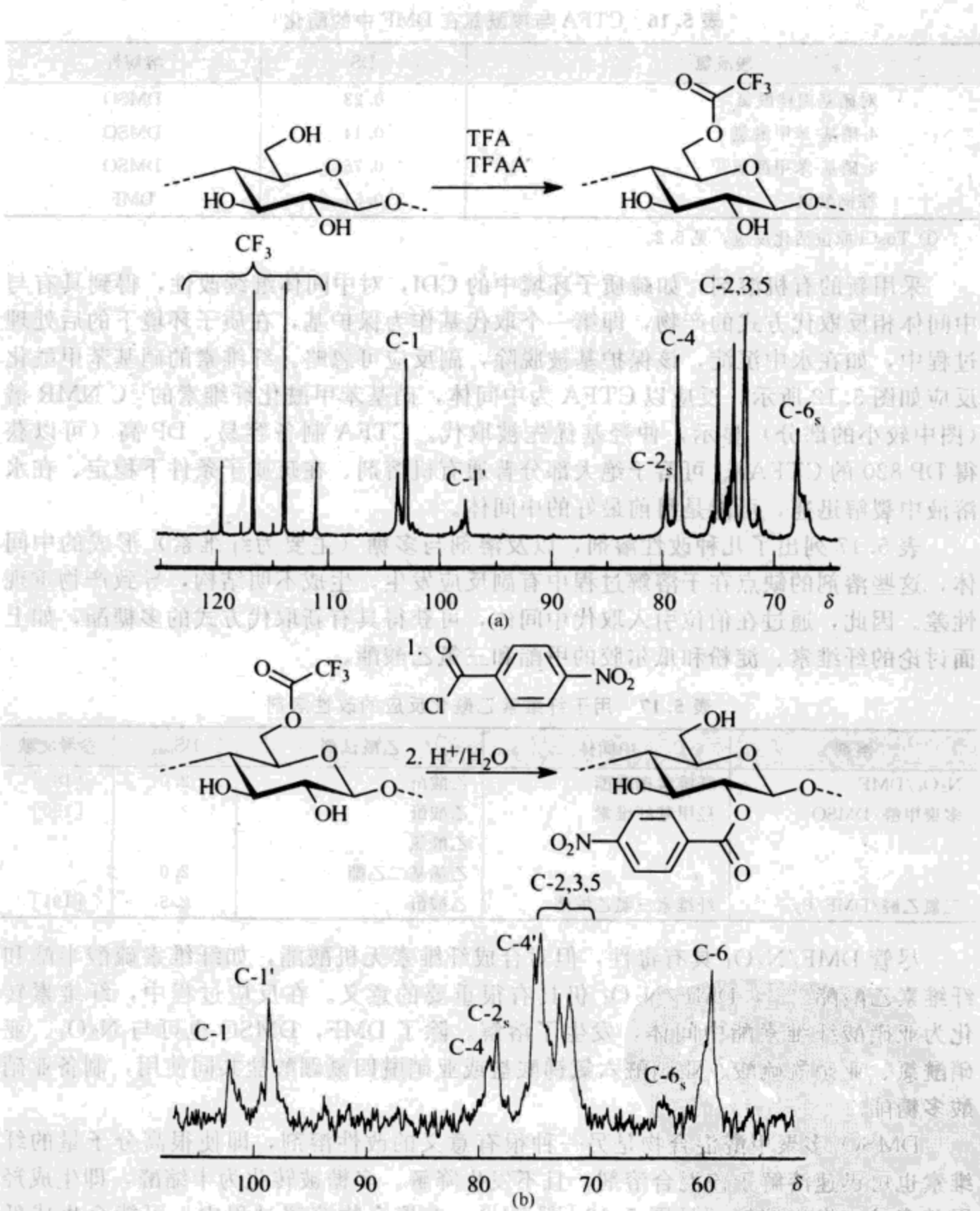


图 5.12 纤维素三氟乙酸酯 (a) 和纤维素硝基苯甲酸酯 (b) 的¹³C NMR 谱图
[(a) DS 1.50; (b) DS 0.76, 进一步酯化所得, 具有相反取代方式]

将自由酸与 TFAA 或羧酰氯配合使用, 甚至可以制备 DS 2.0 的不饱和酯, 如肉桂酸酯或丙烯酸酯^[183]。淀粉在甲酸中的均相乙酰化反应是制备 DS 2.2 淀粉乙酸酯的有用方法, 产物取代基分布方式特殊, 有 70% 伯羟基未被乙酰化^[178]。

表 5.16 CTFA 与羧酰氯在 DMF 中的酯化^①

羧酰氯	DS	溶解性
对硝基肉桂酰氯	0.23	DMSO
4-硝基-苯甲酰氯	0.14	DMSO
4-硝基-苯甲酰氯 ^①	0.76	DMSO
棕榈酰氯	0.51	DMF

① TosCl 原位活化反应，见 5.2。

采用新的有机溶剂，如疏质子环境中的 CDI，对中间体继续改性，得到具有与中间体相反取代方式的产物，即第一个取代基作为保护基，在质子环境下的后处理过程中，如在水中沉淀，该保护基被脱除，副反应可忽略。纤维素的确基苯甲酰化反应如图 5.12 所示，反应以 CTFA 为中间体，硝基苯甲酰化纤维素的¹³C NMR 谱（图中较小的部分）显示，仲羟基优先被取代。CTFA 制备容易、DP 高（可以获得 DP 820 的 CTFA）、可溶于绝大部分普通有机溶剂、在疏质子条件下稳定、在水溶液中裂解迅速，可能是目前最好的中间体。

表 5.17 列出了几种改性溶剂，以及溶剂与多糖（主要为纤维素）形成的中间体，这些溶剂的缺点在于溶解过程中有副反应发生，生成不明结构，导致产物重现性差。因此，通过在伯位引入取代中间体，可获得具有新取代方式的多糖酯，如上面讨论的纤维素、淀粉和瓜尔胶的甲酯和三氟乙酸酯。

表 5.17 用于纤维素乙酰化反应的改性溶剂

溶剂	中间体	乙酰试剂	DS _{max}	参考文献
N ₂ O ₄ /DMF	纤维素硝酸酯	乙酸酐	2.0	[189]
多聚甲醛/DMSO	羟甲基纤维素	乙酸酐	2.0	[190]
		乙酰氯		
		乙烯基二乙酯		
三氯乙醛/DMF/Py	纤维素三氯乙缩醛	乙酸酐	2.5	[191]

尽管 DMF/N₂O₄ 具有毒性，但对合成纤维素无机酸酯，如纤维素硫酸半酯和纤维素乙酸酯^[192]，DMF/N₂O₄ 仍具有很重要的意义。在反应过程中，纤维素转化为亚硝酸纤维素酯中间体，发生了溶解。除了 DMF，DMSO 也可与 N₂O₄、亚硝酰氯、亚硝酰硫酸、亚硝酰六氯铋酸盐或亚硝酰四氟硼酸盐共同使用，制备亚硝酸多糖酯。

DMSO/多聚甲醛混合物是另一种很有意义的改性溶剂，即使很高分子量的纤维素也可迅速溶解于该混合溶剂，且不发生降解。多糖被转化为半缩醛，即生成羟甲基多糖，发生溶解（见图 5.13^[193,194]）。在聚合物溶解过程中，可能会生成低聚甲醛。

¹³C NMR 谱图显示，缩醛反应优先在纤维素 AGU 的 6 位进行，在无水介质中进行后续改性时，羟甲基保持不变。对醚化多糖进行完全水解和 GLC 检测，发现衍生物的仲羟基优先被取代；水解很容易脱除羟甲基。除了羟甲基，低聚甲醛的其他自由羟基也可能在后续改性中反应。在吡啶存在下，在 DMSO/聚甲醛中进行羧酸酐均相酯化反应，包括偏苯三酸酐、三甲基乙酸酐和邻苯二甲酸酐^[195]，产物

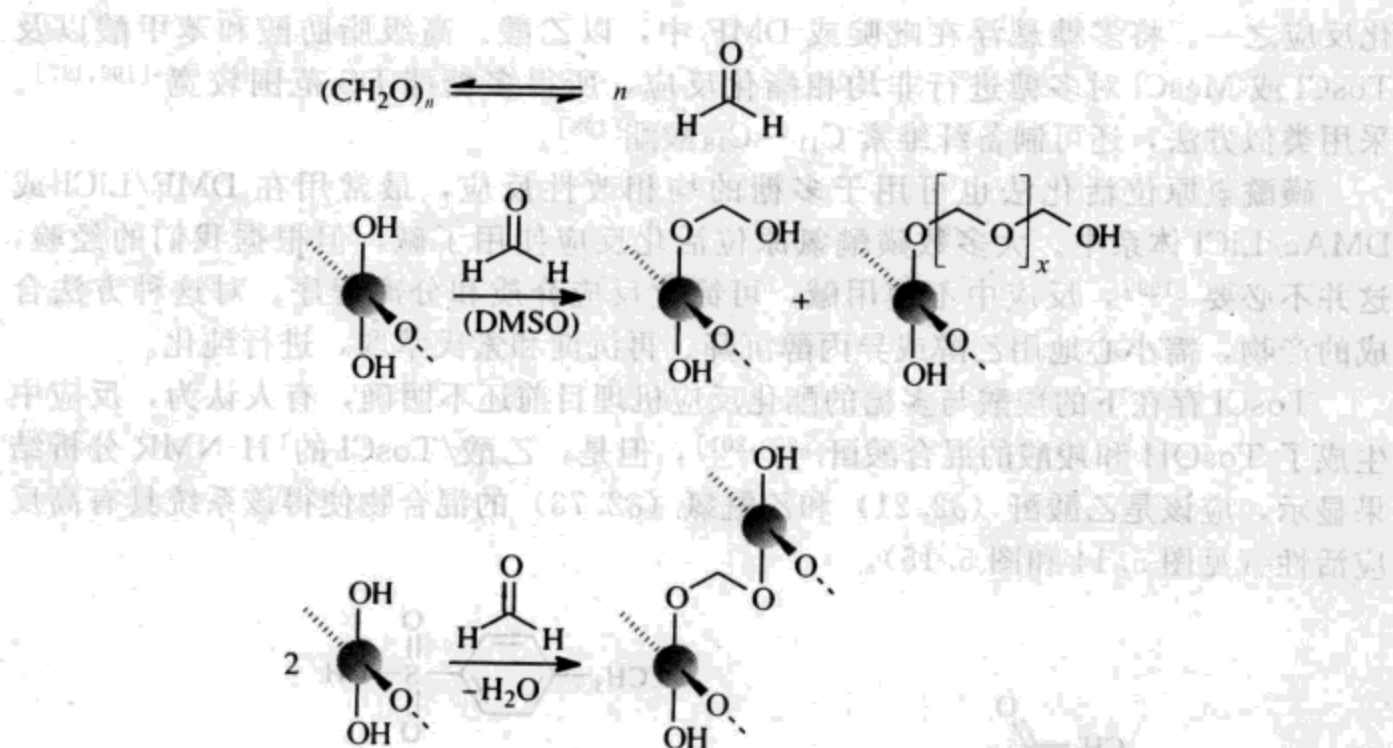


图 5.13 多糖溶解于 DMSO/多聚甲醛形成的羟甲基中间体^[193]

乙酯 DS 可达 2.5，其他酯 DS 一般约 0.2~2.0。除了 DMSO/聚甲醛，DMF/聚甲醛和 DMAc/聚甲醛也可作为溶剂。

在三氯乙醛/DMSO/吡啶混合物中，纤维素的羟基被转化为半乙缩醛，纤维素发生溶解。以乙酸酐或乙酰氯对上述半乙缩醛进行乙酰化改性，所得产物 DS 2.5^[191]。

5.2 羧酸原位活化法

羧酸原位活化法的特点在于：羧酸与某种试剂反应，迅速生成高反应活性的羧酸衍生物，该衍生物可在与多糖反应前生成，也可在一锅反应中直接被转化，通常，该反应需在完全均相条件下进行。“推进剂”法是最早的原位活化法（混合酸酐反应，见第 4 章），此处不再讨论。

许多酸（如不饱和或水解不稳定性酸）的活性酰化剂，如酸酐或酰氯，很难被合成。因此，首先对羧酸原位活化，再对多糖进行改性，可制备更多新的多糖酯。原位活化法反应条件温和，普通副反应，如周环反应、水解反应和氧化反应，在反应中均被抑制；在常用的多糖改性有机介质中，许多酸酐由于存在疏水性而难溶解，所得产物不溶，产率低；此外，在普通酯化反应中，每转化一分子酸酐，将损失半分子酸；因此，原位活化法具有更高的反应效率。本章节将介绍羧酸原位活化法的基本反应过程，通过模型反应阐明反应机理，并列举部分实例，让读者了解原位活化法的应用潜力。

5.2.1 磺酰氯

首先将羧酸与磺酰氯反应，再以所得酸衍生物改性多糖，是最早的羧酸原位活

化反应之一。将多糖悬浮在吡啶或 DMF 中，以乙酸、高级脂肪酸和苯甲酸以及 TosCl 或 MesCl 对多糖进行非均相酯化反应，所得多糖酯 DS 范围较宽 [196,197]。采用类似方法，还可制备纤维素 C₁₁~C₁₈ 酸酯 [198]。

磺酰氯原位活化法也可用于多糖的均相改性反应，最常用在 DMF/LiCl 或 DMAc/LiCl 体系中。大多数磺酰氯原位活化反应使用了碱，但根据我们的经验，这并不必要 [199]，反应中不使用碱，可简化反应介质和分离程序。对这种方法合成的产物，需小心地用乙醇或异丙醇沉降、再沉淀和索氏萃取，进行纯化。

TosCl 存在下的羧酸与多糖的酯化反应机理目前还不明确，有人认为，反应中生成了 TosOH 和羧酸的混合酸酐 [200,201]，但是，乙酸/TosCl 的 ¹H NMR 分析结果显示，应该是乙酸酐 (δ2.21) 和乙酰氯 (δ2.73) 的混合物使得该系统具有高反应活性 (见图 5.14 和图 5.15)。

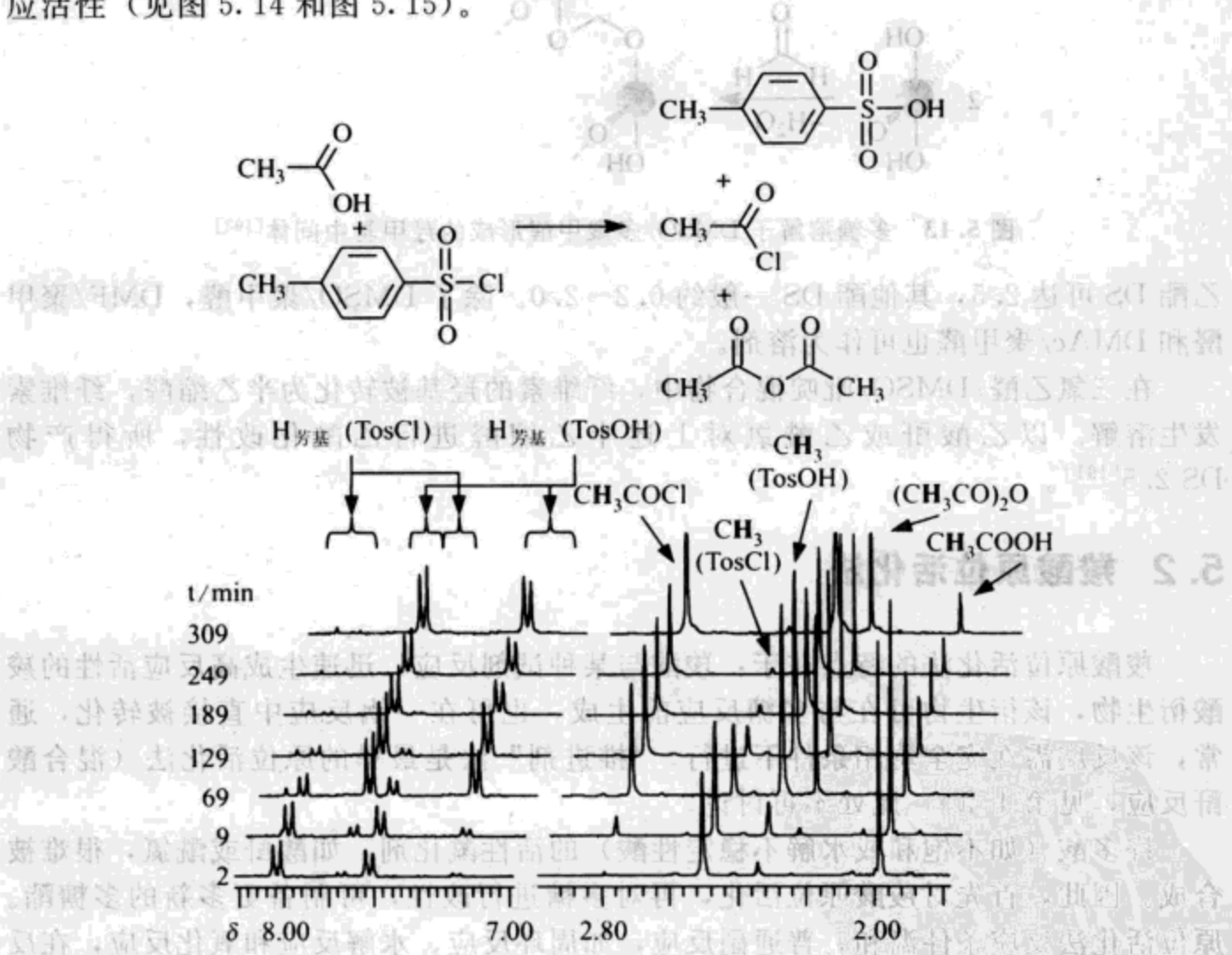


图 5.14 TosCl 原位活化乙酸的¹H NMR 研究结果
证实乙酸酐和乙酰氯的形成

采用磺酰氯原位活化法，在均相 (DMF/LiCl) 体系中，在 TosCl 或 MesCl 和吡啶存在下，以生物活性分子 α-萘乙酸酐、甲氧萘丙酸和尼克酸直接改性多糖，30~70℃，反应 22h，可将这些物质与右旋糖苷共价连接 (见图 5.16)。

反应受温度、吡啶浓度和磺酰氯种类的影响 (见表 5.18 [202])，在无碱条件下，酯化反应也可以进行。

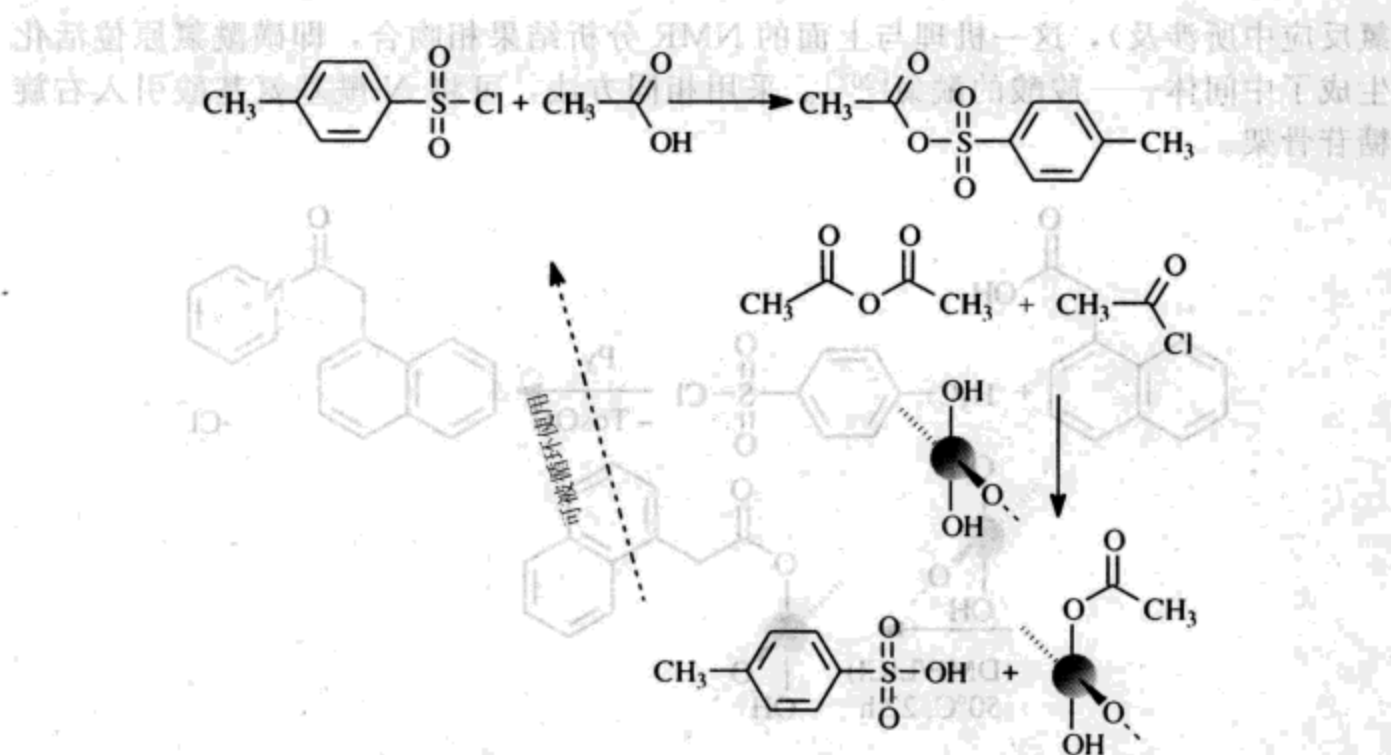


图 5.15 TosCl 羧酸原位活化法的反应途径

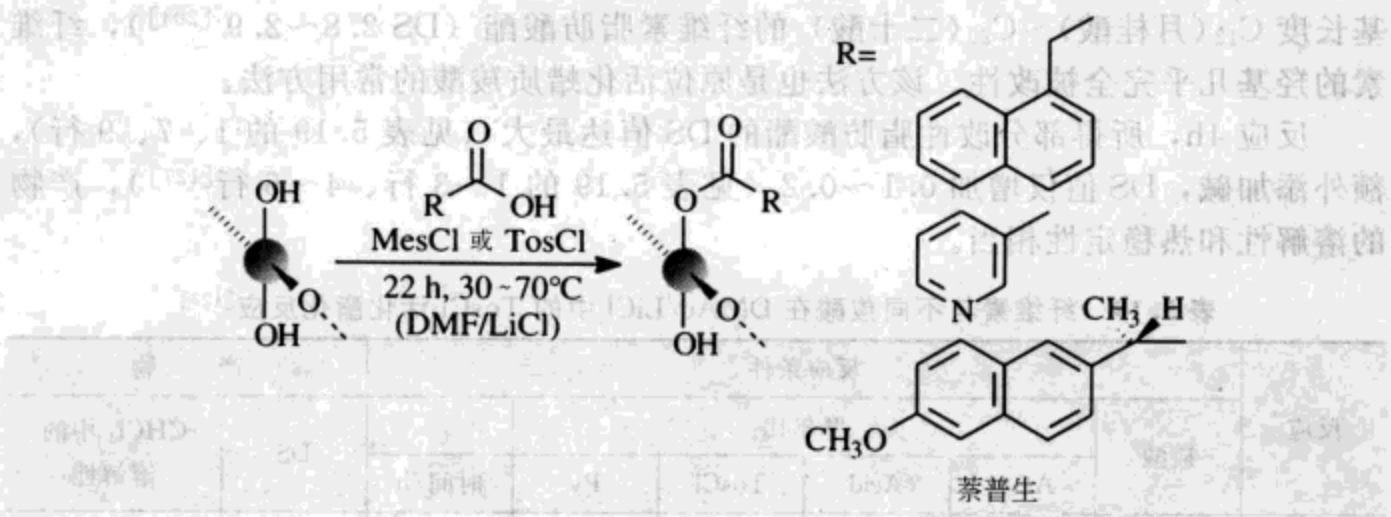


图 5.16 右旋糖苷 α -萘乙酸酯、甲氧萘丙酸酯和尼克酸酯^[202]

表 5.18 在磺酰氯和 Py 参与下，右旋糖苷 (0.12mol/L) 与 α -萘乙酸 (0.37mol/L) 在 DMF/LiCl 中酯化 22h 的反应结果^[202]

条 件				条 件			
[Py]/(mol/L)	温度/℃	磺酰氯	产物 DS	[Py]/(mol/L)	温度/℃	磺酰氯	产物 DS
—	50	TosCl	0.13	0.74	30	TosCl	0.13
0.37	50	TosCl	0.15	0.74	60	TosCl	0.22
0.74	50	TosCl	0.19	0.74	70	TosCl	0.23
1.48	50	TosCl	0.23	0.74	50	MesCl	0.18

部分改性右旋糖苷 α -萘乙酸酯的¹³C NMR 谱图显示，羟基的反应活性依次下降：C-2>C-4>C-3，这种分布与右旋糖苷在乙酰氯/Py 中的反应结果一致^[202]。根据上述研究结果，提出了反应机理（见图 5.17）：反应中生成

氯反应中所涉及)，这一机理与上面的 NMR 分析结果相吻合，即磺酰氯原位活化生成了中间体——羧酸的酰氯^[202]。采用相同方法，可将 N-酰基氨基酸引入右旋糖苷骨架。

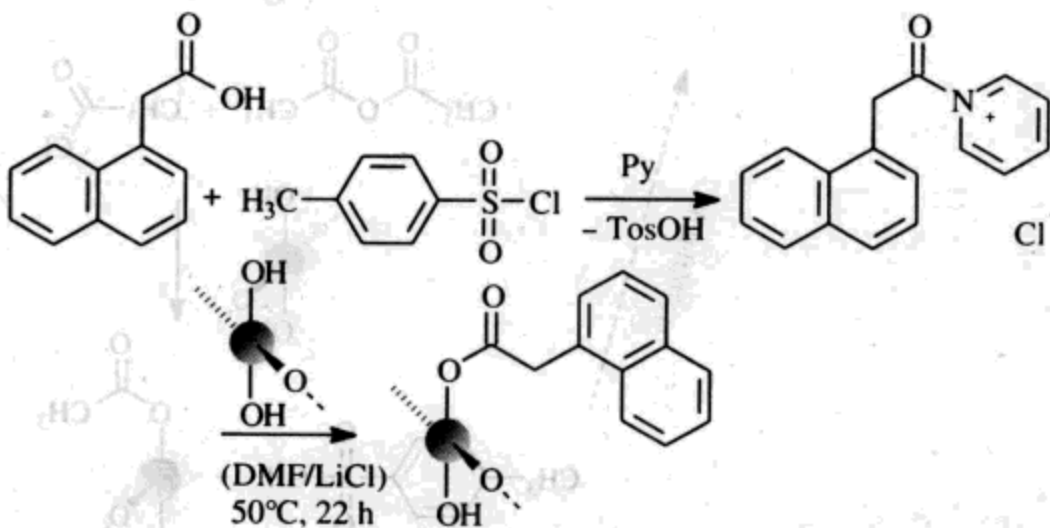


图 5.17 右旋糖苷与 α -萘乙酸在 Py 存在下的 TosCl 原位活化酯化反应^[202]

在 DMAc/LiCl 中，以吡啶为碱，在磺酰氯存在下，50℃反应 24h，可制备烷基长度 C₁₂(月桂酸)~C₂₀(二十酸)的纤维素脂肪酸酯 (DS 2.8~2.9^[204])，纤维素的羟基几乎完全被改性。该方法也是原位活化蜡质羧酸的常用方法。

反应 4h，所得部分改性脂肪酸酯的 DS 值达最大 (见表 5.19 的 1、7、9 行)，额外添加碱，DS 值仅增加 0.1~0.2 (见表 5.19 的 1~3 行、4~6 行^[127])，产物的溶解性和热稳定性相当。

表 5.19 纤维素与不同羧酸在 DMAc/LiCl 中的 TosCl 活化酯化反应^[127]

反应	反应条件						产 物	
	羧酸	摩尔比					DS	CHCl ₃ 中的溶解性
		AGU	Acid	TosCl	Py	时间/h		
1	月桂酸	1	2	2	0	24	1.55	+
2	棕榈酸	1	2	2	0	24	1.60	+
3	硬脂酸	1	2	2	0	24	1.76	+
4	月桂酸	1	2	2	4	24	1.79	+
5	棕榈酸	1	2	2	4	24	1.71	+
6	硬脂酸	1	2	2	4	24	1.92	+
7	月桂酸	1	2	2	0	4	1.55	+
8	棕榈酸	1	2	2	0	4	1.50	+
9	月桂酸	1	2	2	0	1	1.36	—
10	棕榈酸	1	2	2	0	1	1.36	+

在 DMAc/LiCl 中，淀粉也可被 TosCl 活化的长链脂肪酸改性。添加 CDI 可提高转化率，并抑制链的降解反应。

通过 TosCl 原位活化反应，也可向纤维素引入含氟基团，如 2,2-二氟乙氧基、2,2,2-三氟乙氧基和 2,2,3,3,4,4,5,5-八氟戊氧基 (由氟化醇和单氯乙酸合成)，

产物 DS 一般介于 1.0~1.5, 产物疏水性和热稳定性逐渐增加 (见图 5.18 [201,205,206])。可采用 ^{19}F NMR 法对产物进行结构分析 (见图 5.19)。

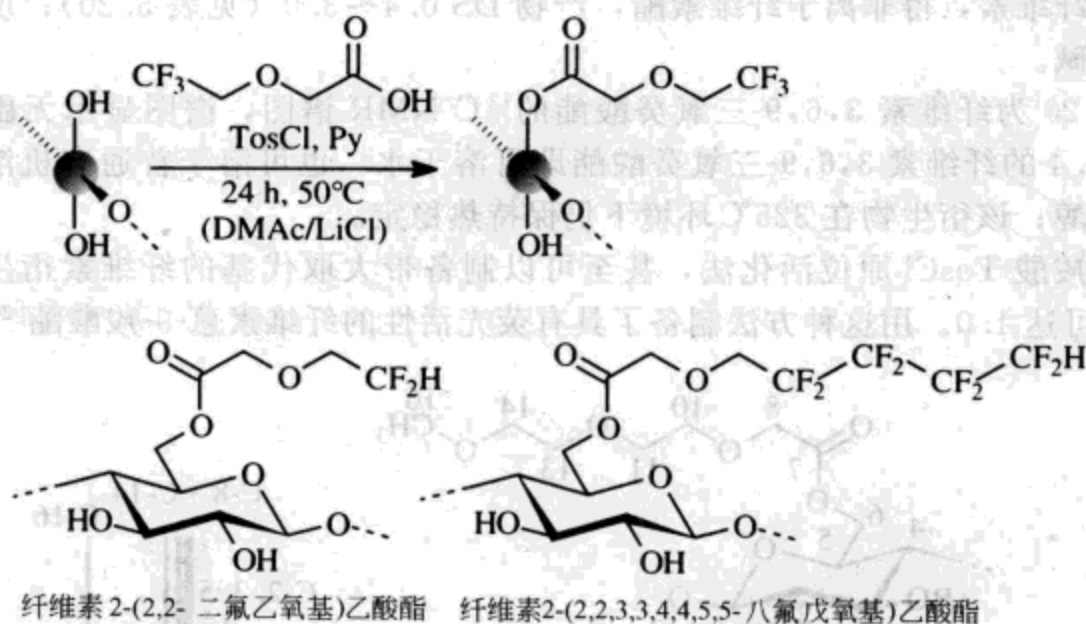


图 5.18 可通过 TosCl 原位活化法制备的含氟纤维素衍生物 [206]

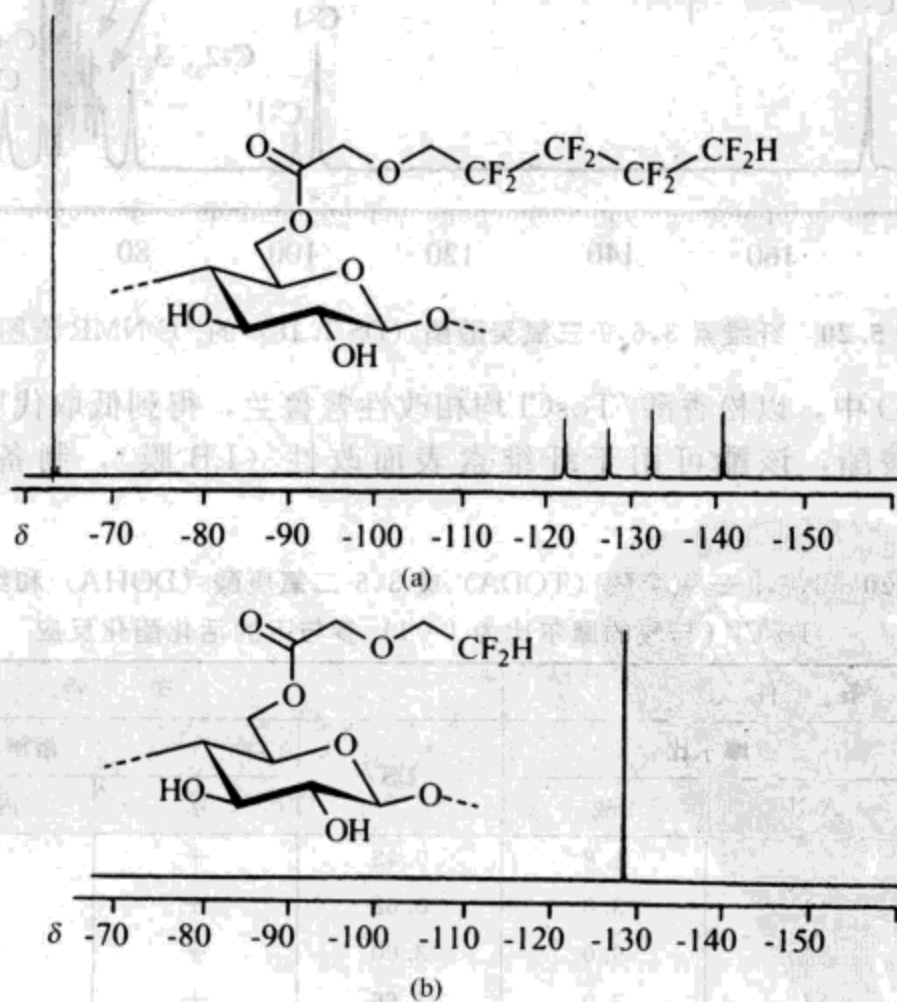


图 5.19 纤维素 2,2,3,3,4,4,5,5-八氟戊氧基)乙酸酯 (a) 和纤维素 2-(2,2-二氟乙氧基)乙酸酯 (b) 的 ^{19}F NMR 谱图

[(a) $\delta 64.1$ 为内标 3-三氟甲基苯甲酮的信号; (b) DS 1.0]

此外，采用 TosCl 原位活化法，在 DMAc/LiCl 中，以含氧羧酸改性纤维素，还可获得水溶性的纤维素酯^[199]。在 TosCl 存在下，以 3,6,9-三氧癸酸或 3,6-二氧庚酸改性纤维素，得非离子纤维素酯，产物 DS 0.4~3.0（见表 5.20）；反应不需要额外用碱。

图 5.20 为纤维素 3,6,9-三氧癸酸酯的¹³C NMR 谱图，谱图显示无副反应发生。DS 0.4 的纤维素 3,6,9-三氧癸酸酯即可溶于水，也可溶于普通有机溶剂，如丙酮、乙醇；该衍生物在 325℃ 环境下仍保持热稳定。

采用羧酸 TosCl 原位活化法，甚至可以制备带大取代基的纤维素衍生物，产物 DS 值可达 1.0。用这种方法制备了具有荧光活性的纤维素蒽-9-羧酸酯^[207]。

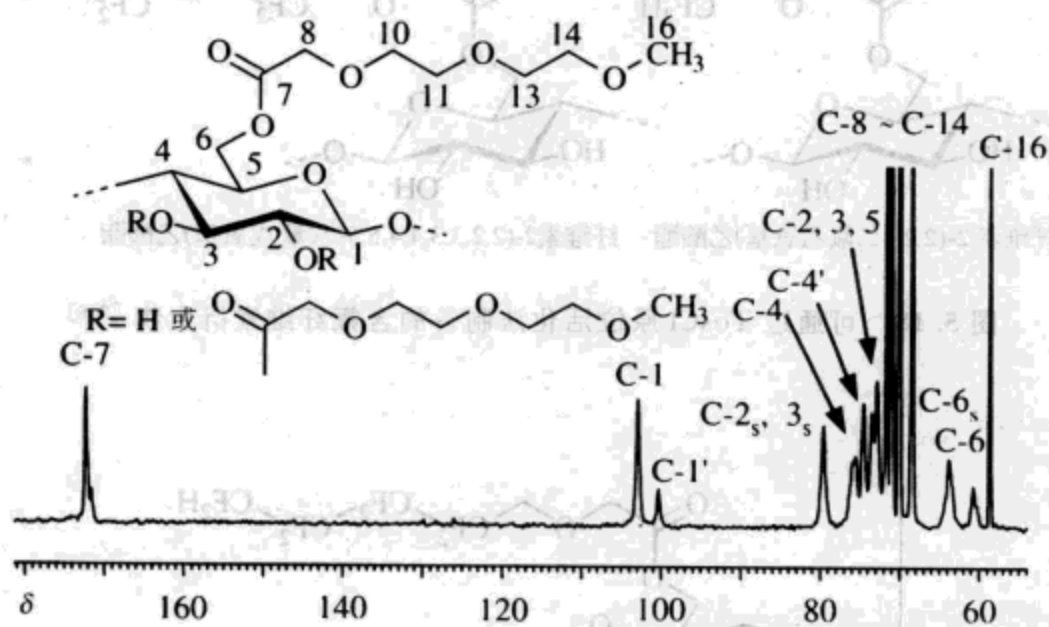


图 5.20 纤维素 3,6,9-三氧癸酸酯 (DS 1.18) 的¹³C NMR 谱图^[199]

在 DMSO 中，以松香酸/TosCl 均相改性普鲁兰，得到低取代度 (DS 0.4) 的普鲁兰松香酸酯，该酯可用于纤维素表面改性 (LB 膜)，制备仿生木材复合物^[208]。

表 5.20 3,6,9-三氧癸酸 (TODA) 或 3,6-二氧庚酸 (DOHA) 和纤维素在 TosCl (与酸的摩尔比为 1:1) 参与下的活化酯化反应

条 件			产 物			
酸	摩尔比		DS	溶解性		
	AGU	酸		水	丙酮	乙醇
TODA	1	1.8	0.43	+	—	—
TODA	1	3.0	0.62	+	+	—
TODA	1	9.0	3.00	+	+	+
DOHA	1	3.0	1.66	+	+	—
DOHA	1	6.0	1.87	+	+	—

注：反应条件 3h, 65℃^[199]。

由上可见，磺酰氯，尤其是 TosCl 参与的羧酸原位活化反应流程简单，对制

备多糖长链脂肪酸和脂环酸酯具有重要意义。如果采用 DMF 或 DMAc 为溶剂, 则不需要额外用碱。反应伴随明显的降解反应, 小心去除副产物非常必要, 最好采用乙醇萃取分离。产物质量可通过分析 S 含量进行控制。

除了磺酰氯, 采用以 TosOH 为催化剂, 乙酸酐可在乙酸中改性凝胶多糖, 但该反应属于催化反应, 并非原位活化反应^[209]。

也有所报道采用 TosCl 为催化剂, 进行多糖与乙酸的碱金属或碱土金属盐的酯化反应^[197]。

5.2.2 碳二酰亚胺

碳二酰亚胺类偶合剂最常用于多糖与复杂羧酸的酯化反应, 其中应用最广的是 *N,N'*-二环己基碳二亚胺 (DCC), DCC 在多肽和蛋白质化学中应用尤其广泛 (见图 5.21^[210])。

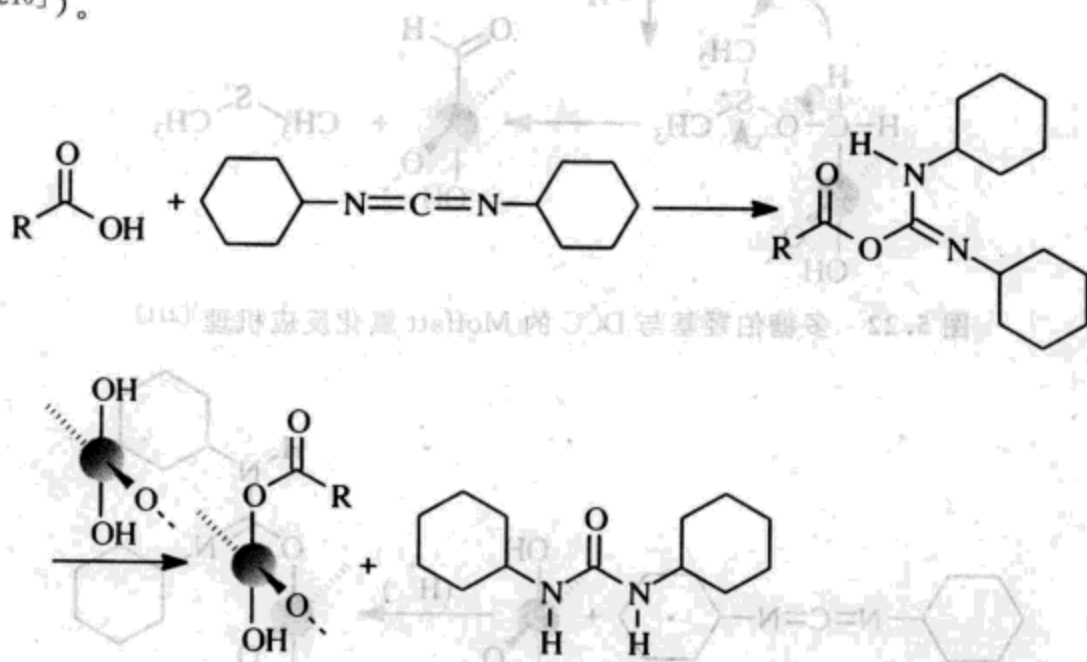


图 5.21 多糖与羧酸的 DCC 原位活化酯化反应^[210]

碳二酰亚胺试剂存在许多缺点: 首先, 具有毒性, 尤其是与皮肤接触时, DCC 的 LD₅₀ (皮肤, 小鼠) 为 71mg/kg, 如果反应产物需用于生物领域, 则必须考虑 DCC 的毒性; 其次, 反应副产物 *N,N*-二烷基脲分离困难, 除了在 DMF 和 DMSO 体系中可通过过滤分离, 一般很难与聚合物分离; 另外, 在碳二酰亚胺试剂存在下, DMSO 中的多糖在酯化反应可能伴随 Moffatt 反应, 羟基会发生氧化 (见图 5.22^[211])。

2,4-二硝基苯肼可检测生成的氧化产物, 如 DMSO 中 DCC 参与的右旋糖苷改性反应^[212]。另外, 在反应过程中, DMSO 会分解为具有刺激性气味的二甲基硫醚。DCC 还可与多糖反应, 生成异脲醚, 反应如图 5.23 所示。

尽管存在上述问题, 目前许多酯化反应仍然采用 DCC 为偶合剂, 目前由这种方法合成的绝大多数多糖衍生物的结构分析还仅限于结合酸含量的测定, 并没有对结合方式 (侧链的形成, MS) 进行分析, 而且, 在任何情况下, 我们都需要注意和分析上述副反应。5.2.3 对 DCC 和 CDI 进行了对比讨论, 根据我们自己的经验,

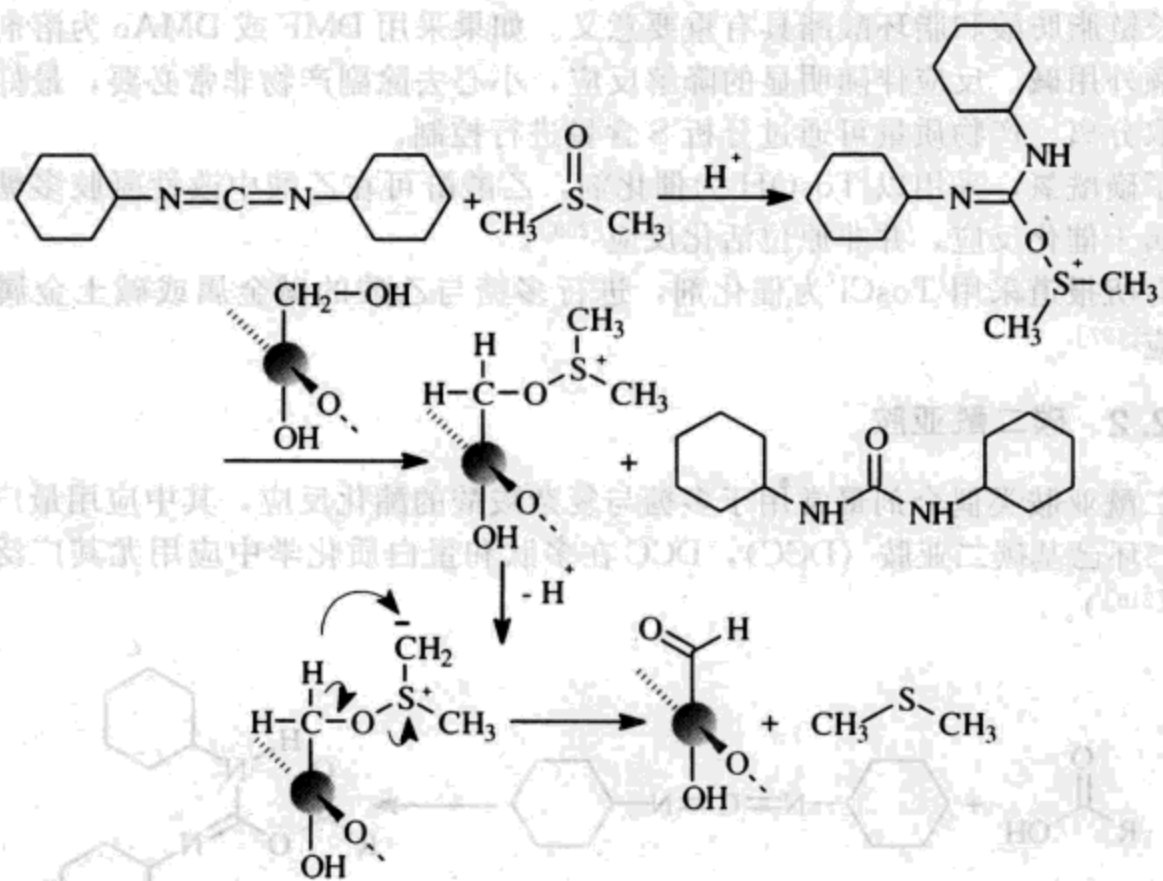


图 5.22 多糖伯羟基与 DCC 的 Moffatt 氧化反应机理 [211]

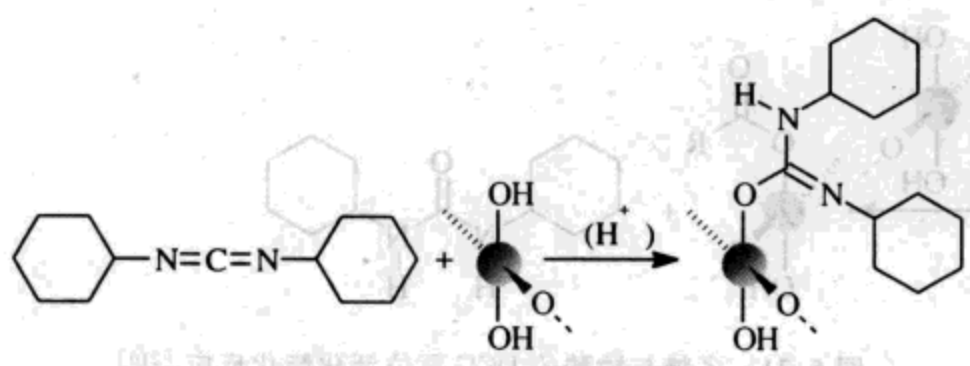


图 5.23 DCC 与多糖反应生成异脲醚 [212]

对引入复杂酯基，通常 CDI 更合适。

DCC 更常与 DMAP 共同使用，DMAP 起到催化剂的作用，在该体系中可制备许多新型多糖酯。尽管这种方法已被广泛应用，但反应效率通常很低，酸转化率仅 10%~30%。另一种更有效的方法是：用 DCC/PP 混合试剂对多糖进行改性，如向多糖引入长链脂肪酸 [99]。甲酰胺/DMF/CH₂Cl₂ 混合溶剂也可用于多糖（如右旋糖苷和普鲁兰）酰化反应。

DCC 可将许多生物分子与多糖共价连接，如引入受保护的氨基酸。在 DCC/DMAP 存在下，N,N'-二-苄氧基羰基-L-赖氨酸和 N,N'-苄氧基羰基甘氨酸可对果聚糖菊粉进行改性（见图 5.24 [213]），在 DMF 溶液中，对菊粉的改性可以在很温和的条件下完成（RT、6h），产物菊粉赖氨酸酯的 DS 值为 0.95，菊粉甘氨酸酯的 DS 值为 1.01。以 1,4-环己二烯为供氢剂，通过催化转移氢化法，可脱除氨基酸的保护基。

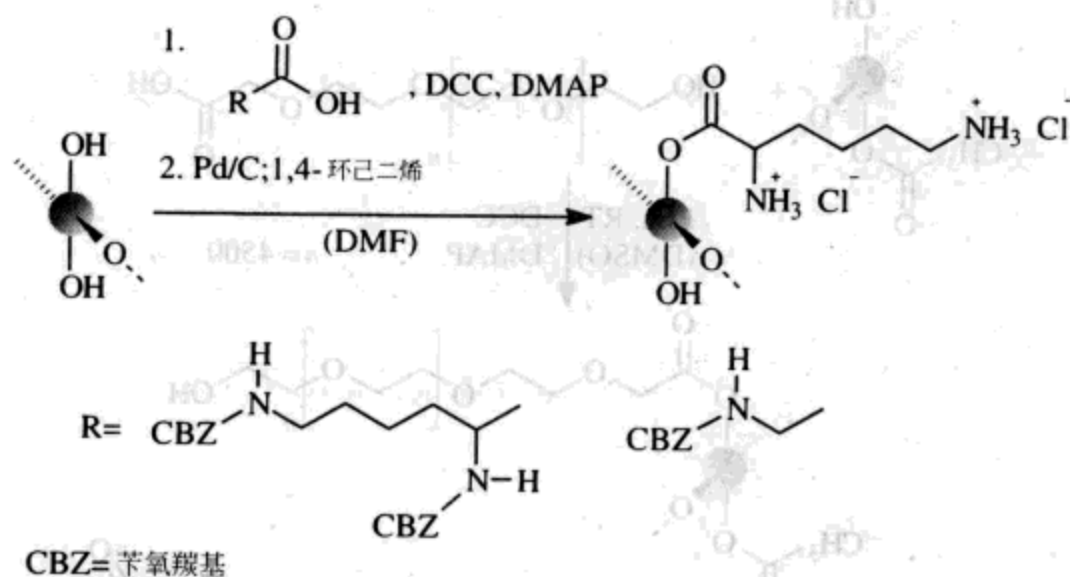


图 5.24 在 DCC/DMAP 存在下, 由 N,N' -二苄氧基羰基-L-赖氨酸和 N,N' -苄氧基羰基甘氨酸合成菊粉氨基酸酯^[213]

在 DCC 和 Py 参与下, N -苄氧基羰基保护的氨基酸与右旋糖苷在 DMSO 中, 20°C 反应 48h, 合成了 O -(N -苄氧基羰基氨基乙酰) 右旋糖苷、 O -(N -苄氧基羰基氨基庚酰) 右旋糖苷和 O -(N -乙酰-L-组氨酸) 右旋糖苷, 各酯的 DS 分别为 1.1、2.2 和 1.1; 可采用草酸和 Pd/C 进行脱保护反应^[214,215]。

以大的疏水性羧酸/DCC 对多糖进行改性, 制备了右旋糖苷和普鲁兰的两亲性衍生物。以 DCC/DMAP (在二氯甲烷中) 为偶合剂, 胆汁酸与右旋糖苷在 DMF/甲酰胺中均相反应, 两种物质可通过酯键共价连接 (见图 5.25), 所接酸量 (由 UV/Vis 法测定) 介于 10.8%~11.4% (摩尔分数)^[216,217]。

在 DMSO 中, DCC/DMAP 参与下, 以羧甲基聚乙二醇对疏水性普鲁兰乙酸酯进一步酯化改性, 获得两亲性聚合物 (见图 5.25), 约 42% 羧甲基聚乙二醇与普鲁兰骨架相连, 过滤可去除副产物 N,N' -二环己基脲^[218]。在 DMSO 中, DCC/DMAP 存在下, 以高氟烷基羧酸 (如 $\text{C}_8\text{F}_{17}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) 直接改性普鲁兰, 40°C 反应 24h, 制得疏水性普鲁兰衍生物, 但产物疏水性基团含量较低 (1.1%~4.8%)^[219]。腺嘌呤-9-丁酸和胸腺嘧啶-1-丁酸也可对普鲁兰进行低度疏水化改性 (见表 5.21^[220])。

DCC 原位活化法还可用于制备更多新物质 (前体药物, 见第 10 章), 如: 羧化磺脲和普鲁兰在 DMSO 中合成的酯^[221], 该酯影响胰岛素分泌。以 TEA 为碱, 在 DMSO 或 DMF 中, 合成了右旋糖苷和菊粉的甲硝哒唑单琥珀酸酯 (见图 5.26^[222])。

另一种原位活化法是将 DCC 与 4-吡咯烷基吡啶 (PP) 共同使用, 制备纤维素脂肪酸酯^[223], 这种方法的优点在于 PP 反应生成的混合酸酐中间体具有高反应活性, 在 DMAc/LiCl 中, 己酸也可完全均相反应。如果反应物为羧酸酐, 释放出的羧酸可与 PP 生成混合酸酐, 并循环使用, PP 只需催化剂用量, 而且, 有毒的 DCC 可从反应混合物中回收 (见图 5.27)。该方法还可用于制备不饱和酸酯 (如甲

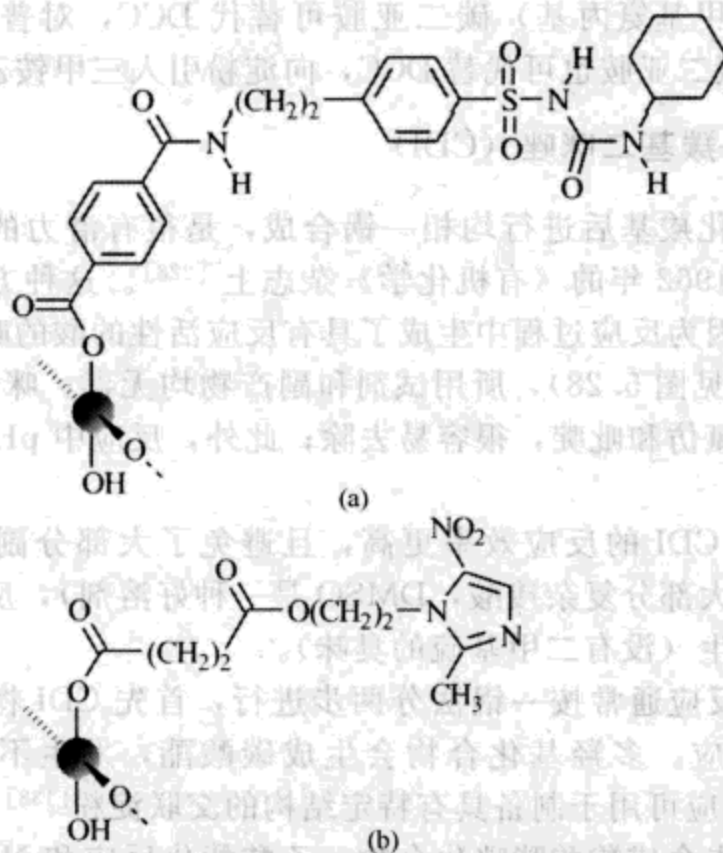


图 5.26 普鲁兰羧化磺脲酯 (a) 和右旋糖苷甲硝咪唑单琥珀酸酯 (b) 的结构

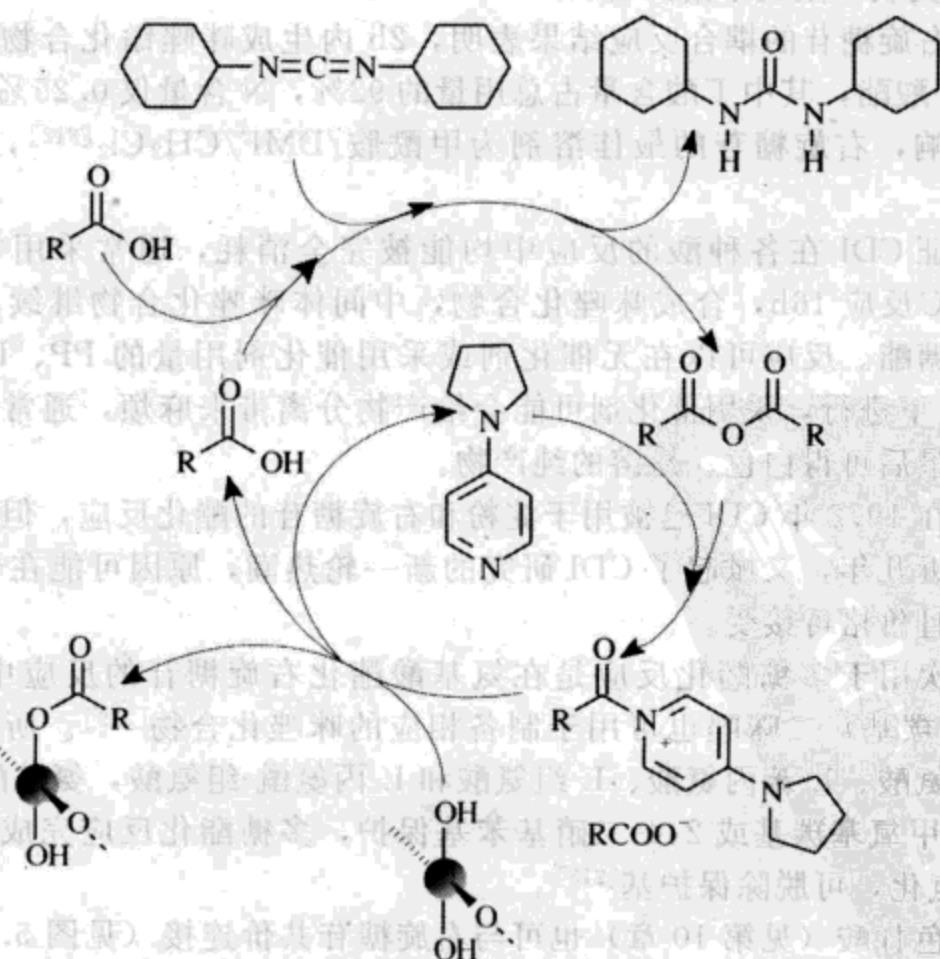


图 5.27 PP/DCC 参与下纤维素的酯化反应途径^[223]

1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基) 碳二亚胺可替代 DCC, 对普鲁兰进行疏水性改性^[226]; 二异丙基碳二亚胺也可代替 DCC, 向淀粉引入三甲铵乙内酯基^[227]。

5.2.3 N,N' -羰基二咪唑 (CDI)

在 CDI 原位活化羧基后进行均相一锅合成, 是很有潜力的多糖改性方法, 这种方法首次发表在 1962 年的《有机化学》杂志上^[228]。这种方法特别适合于生物高分子的改性, 因为反应过程中生成了具有反应活性的酸的咪唑化合物, 副产物仅有 CO_2 和咪唑 (见图 5.28), 所用试剂和副产物均无毒; 咪唑与很多溶剂互溶, 包括水、醇、醚、氯仿和吡啶, 很容易去除; 此外, 反应中 pH 没有明显变化, 链降解可以被忽略。

与 DCC 相比, CDI 的反应效率更高, 且避免了大部分副反应, 反应可采用 DMSO 为溶剂 (对大部分复杂羧酸, DMSO 是一种好溶剂), 反应中无氧化反应及 DMSO 降解反应伴生 (没有二甲基硫的臭味)。

CDI 活化酯化反应通常按一锅法分两步进行, 首先 CDI 将酸转化为咪唑化合物, 再进行酯化反应。多羟基化合物会生成碳酸酯, 发生不期望的交联 (见图 5.28), 这种交联反应可用于制备具有特定结构的交联淀粉^[138]。

通常反应需首先合成羧酸咪唑化合物, 乙酸酯化反应和 NMR 谱 (见图 5.29) 分析结果显示, 室温下, CDI 在 6h 内被完全消耗 (对比图 5.28), 避免了未反应的 CDI 发生交联, 生成不溶产物。

丁酸与右旋糖苷的耦合反应结果表明, 2h 内生成咪唑鎓化合物, 室温, 反应 17h, 生成丁酸酯, 其中丁酸含量占总用量的 92%, N 含量仅 0.25%。溶剂对反应存在明显影响, 右旋糖苷的最佳溶剂为甲酰胺/DMF/ CH_2Cl_2 ^[212], PP 为反应催化剂。

为了保证 CDI 在各种酸的反应中均能被完全消耗, 通常采用等摩尔的酸和 CDI, 在 60℃ 反应 16h, 合成咪唑化合物, 中间体咪唑化合物继续与多糖溶液反应, 生成多糖酯。反应可以在无催化剂或采用催化剂用量的 PP、DMAP 或醇盐 (如甲醇钾) 下进行, 采用催化剂可能会给产物分离带来麻烦, 通常乙醇沉淀和洗涤已足够, 最后可得白色、易溶的纯产物。

尽管早在 1972 年 CDI 已被用于淀粉和右旋糖苷的酯化反应, 但至今其应用仍然很少。最近几年, 又掀起了 CDI 研究的新一轮热潮, 原因可能在于 CDI 现在已商业可得, 且价格可接受。

CDI 首次用于多糖酯化反应是在氨基酸酯化右旋糖苷的反应中, 除了 CDI, N,N' -(硫代羰基) 二咪唑也可用于制备相应的咪唑化合物^[229]。所用氨基酸有甘氨酸、L-亮氨酸、L-苯丙氨酸、L-组氨酸和 L-丙氨酰-组氨酸, 氨基酸被 N -三氟乙酰基、 N -苯甲氧基羰基或 2,4-二硝基苯基保护, 多糖酯化反应完成后, 通过水解或 Pd 催化氢化, 可脱除保护基^[215]。

平喘药色甘酸 (见第 10 章) 也可与右旋糖苷共价连接 (见图 5.30)。室温下, 在 TEA 和 DMAP 存在下, 右旋糖苷在 DMF 中反应 5h, 色甘酸首先被 CDI 转化为咪唑化合物, 反应可在 48h 内完成, 反应收率高 (达 50%), 产物酸含量

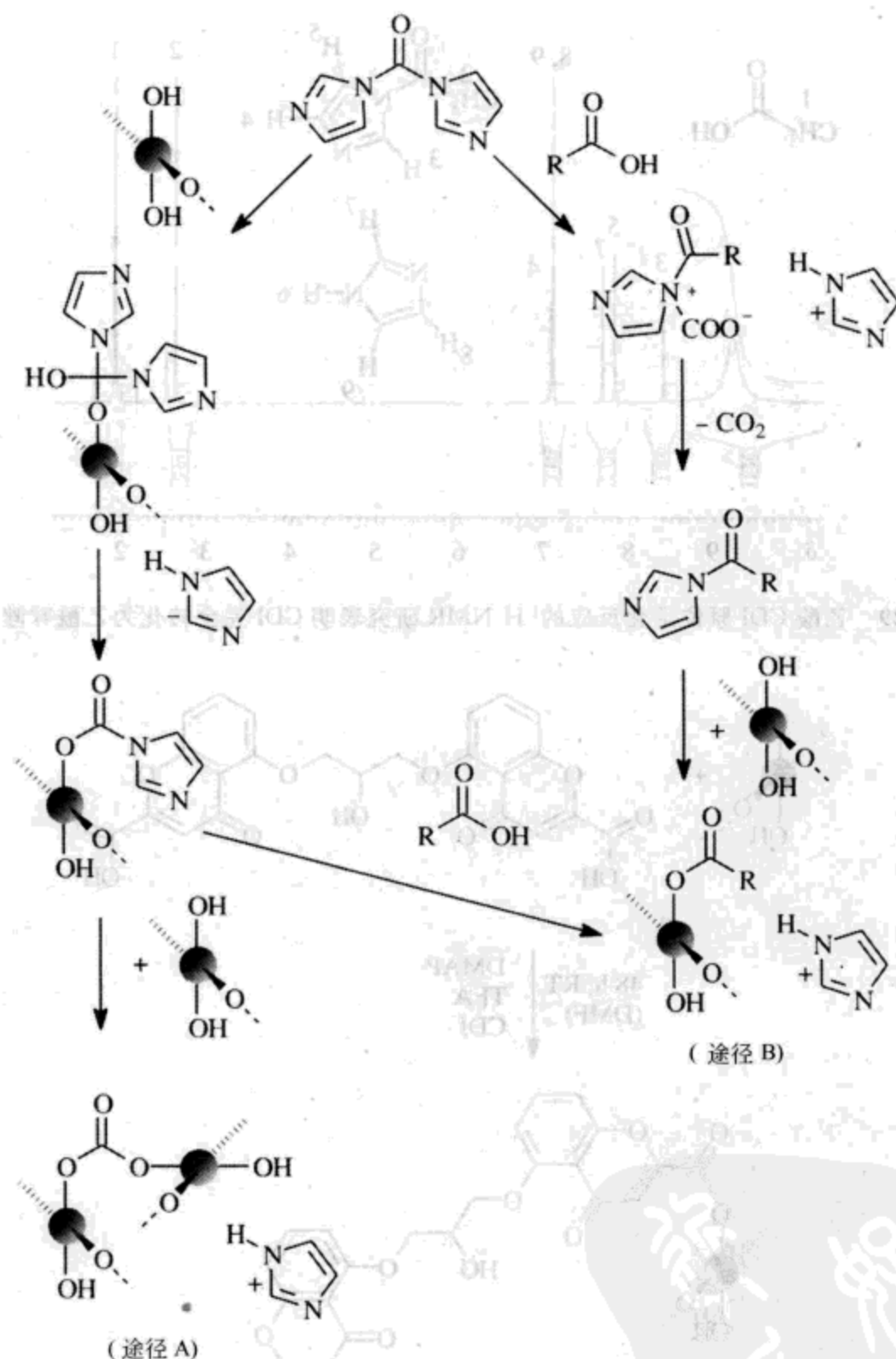


图 5.28 第一步以 CDI 处理多糖时的酯化反应 (途径 B) 或交联反应 (途径 A)^[212]

0.8%~40% (质量分数), (除了酸的分子间酯化反应, 没有其他结构信息, 故无法计算 DS)。另一种方法是先将自由酸氯化, 再与右旋糖苷在甲酰胺中反应, 所得产物酯的收率低 (1.5%), 仅含 2.5% 色甘酸^[230]。

通过 CDI 活化法, 以碳酸酯基将酯羟基和多糖羟基偶联, 可向多糖骨架引入含酯基的取代基, 反应过程如图 5.31 所示。这种方法可用于制备含可水解基团的可聚合右旋糖苷^[231]。

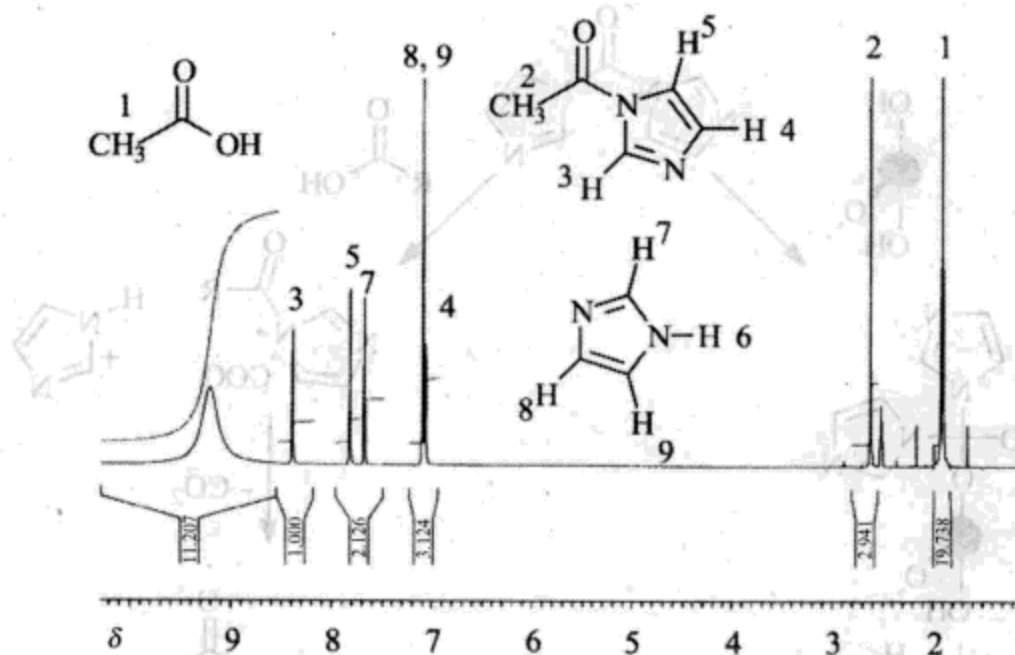


图 5.29 乙酸 CDI 原位活化反应的¹H NMR 研究表明 CDI 完全转化为乙酰咪唑化合物

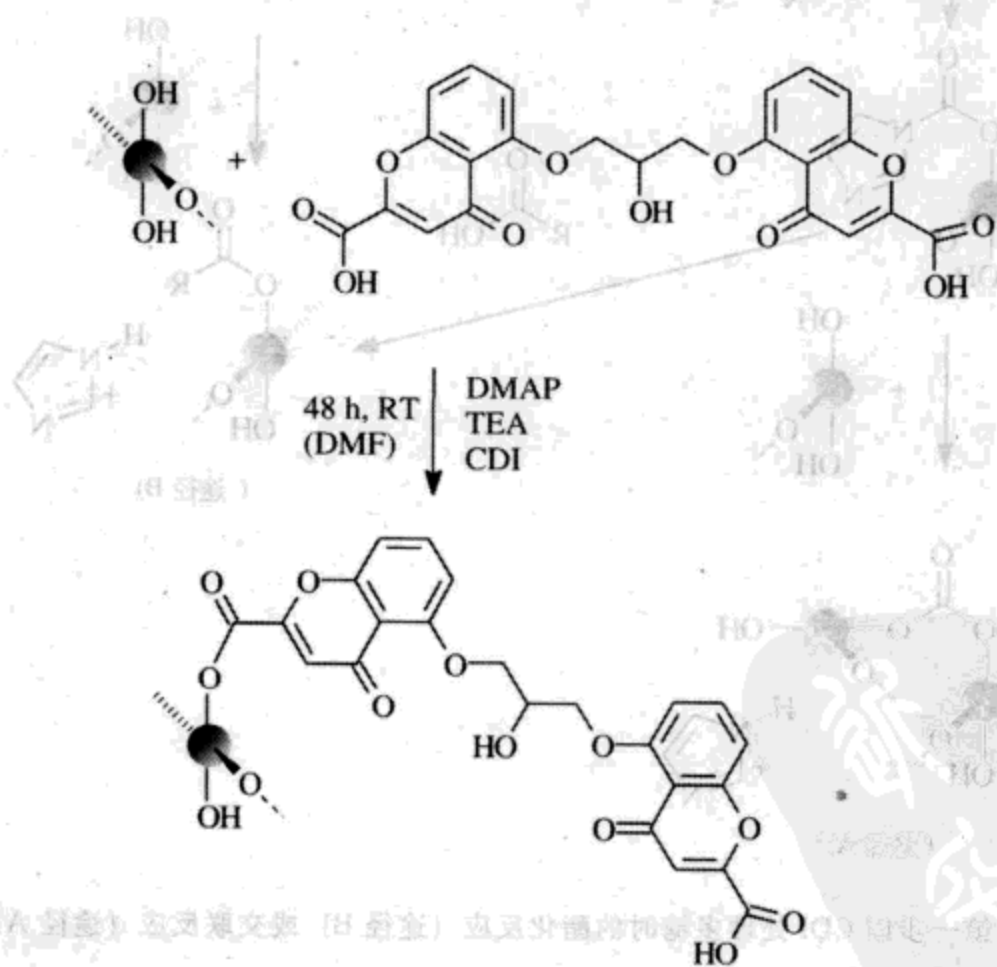


图 5.30 以 CDI 原位活化法制备右旋糖苷色甘酸酯 [230]

也可通过 CDI 活化法制备淀粉长链脂肪酸酯，反应可在水相介质中或悬浮液（如卤化烃^[138]）中进行。采用 CDI 活化法，制备了脂肪酸酯（乙酸酯至硬脂酸酯）、二羧酸酯和三羧酸酯，但产物 DS 却很低，仅 0.01~0.15（见表 5.3）。

表 5.22 对比了淀粉脂肪酸酯（C₁₄~C₁₈）的三种制备方法：在 DMAc/LiCl 中

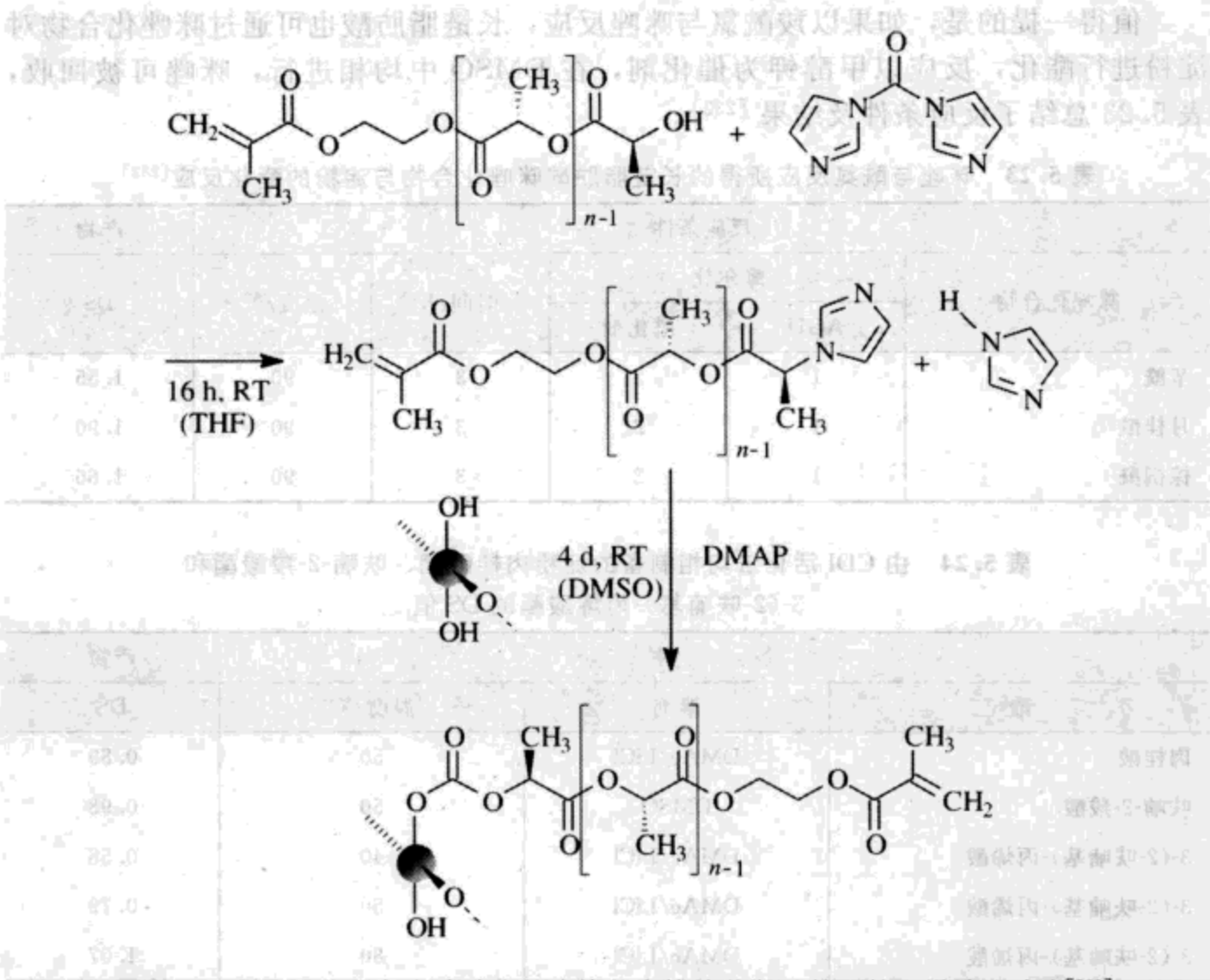


图 5.31 CDI 活化制备由碳酸酯基连接的右旋糖苷羟乙基甲基丙烯酸乳酸酯^[231]

与脂肪酸酰氯反应、TosCl 原位活化法以及 CDI 原位活化法，在 CDI 原位活化反应中，聚合物降解和副反应明显减少^[168]。

表 5.22 采用酰氯、TosCl 原位活化法及 CDI 原位活化法进行淀粉与长链脂肪酸的酯化反应^[168]

反应条件								产物
试剂	摩尔比					时间/h	温度/℃	DS
	AGU	酰化剂	偶合剂		Py			
			种类	用量				
肉豆蔻酰氯	1	4.5	—	—	5.4	6	100	2.69
棕榈酰氯	1	4.5	—	—	5.4	6	100	2.70
硬脂酰氯	1	4.5	—	—	5.4	6	100	2.17
肉豆蔻酸	1	6.0	TosCl	6	12.0	24	50	1.87
棕榈酸	1	6.0	TosCl	6	12.0	24	50	1.18
硬脂酸	1	6.0	TosCl	6	12.0	24	50	2.17
肉豆蔻酸	1	3.0	CDI	3	—	24	80	1.78
棕榈酸	1	3.0	CDI	3	—	24	80	1.52
硬脂酸	1	3.0	CDI	3	—	24	80	1.65

值得一提的是，如果以羧酐氯与咪唑反应，长链脂肪酸也可通过咪唑化合物对淀粉进行酯化，反应以甲醇钾为催化剂，在 DMSO 中均相进行，咪唑可被回收，表 5.23 总结了反应条件及结果^[232]。

表 5.23 咪唑与酐氯反应所得的长链脂肪酸咪唑化合物与淀粉的酯化反应^[232]

反应条件					产物
咪唑化合物	摩尔比		时间/h	温度/℃	DS
	AGU	酰化剂			
辛酰	1	2	3	90	1.55
月桂酰	1	2	3	90	1.90
棕榈酰	1	2	3	90	1.66

表 5.24 由 CDI 活化法均相制备的淀粉肉桂酸酯、呋喃-2-羧酸酯和 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯的 DS 值

条 件			产物
酸	溶剂	温度/℃	DS
肉桂酸	DMAc/LiCl	50	0.89
呋喃-2-羧酸	DMSO	50	0.98
3-(2-呋喃基)-丙烯酸	DMAc/LiCl	40	0.58
3-(2-呋喃基)-丙烯酸	DMAc/LiCl	50	0.79
3-(2-呋喃基)-丙烯酸	DMAc/LiCl	80	1.07

注：反应条件摩尔比 AGU：羧酸：CDI=1：3：3^[232]。

采用 CDI 活化法，可在温和条件下向淀粉骨架导入高反应活性的不饱和基团。在 DMAc/LiCl 或 DMSO 中，可制备淀粉肉桂酸酯、呋喃-2-羧酸酯以及 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯（见表 5.24^[233]）。

含手性中心、(－)- 盖氧基乙酸、不饱和酸、3-(2-呋喃基)-丙烯酸、杂环、呋喃-2-羧酸、冠醚、4'-碳酸苯并-18-冠-6 和环糊精、羧甲基-β-环糊精等结构的不同羧酸也可采用 CDI 原位活化法，对纤维素进行改性，我们将对此作详细介绍（见图 5.32^[234]）。

(－)- 盖氧基乙酸参与的 CDI 原位活化反应过程简单：将在 DMAc 中制备的咪唑鎓化合物和纤维素的 DMAc/LiCl 溶液混合，加热到 60℃，反应完成后，用甲醇沉淀、过滤，可得 DS 高达 2.53 的纯纤维素 (－)- 盖氧基乙酸酯（见表 5.25），FTIR、元素分析、¹H NMR 和¹³C NMR 分析，以及全酰基化产物的¹H NMR 分析，对产物结构和 DS 进行表征，纤维素 (－)- 盖氧基乙酸酯的 NMR 谱具有很高的分辨率。

图 5.33 是纤维素 (－)- 盖氧基乙酸酯 (DS 1.66) 在 CDCl₃ 中的¹³C NMR 谱图，这种高度改性的产物甚至可溶于挥发性溶剂，包括 THF 和氯仿，这一点对其成膜性很重要。

表 5.25 纤维素与 (–)- 盖氧基乙酸的 CDI 原位活化酯化反应^[234]

反应条件			产 物				
摩尔比			DS	溶解性			
AGU	酸	CDI		DMSO	DMF	丙酮	CHCl ₃
1	2.5	2.5	0.20	+	+	—	—
1	5.0	5.0	1.66	—	+	+	+
1	7.5	7.5	2.53	—	+	+	+

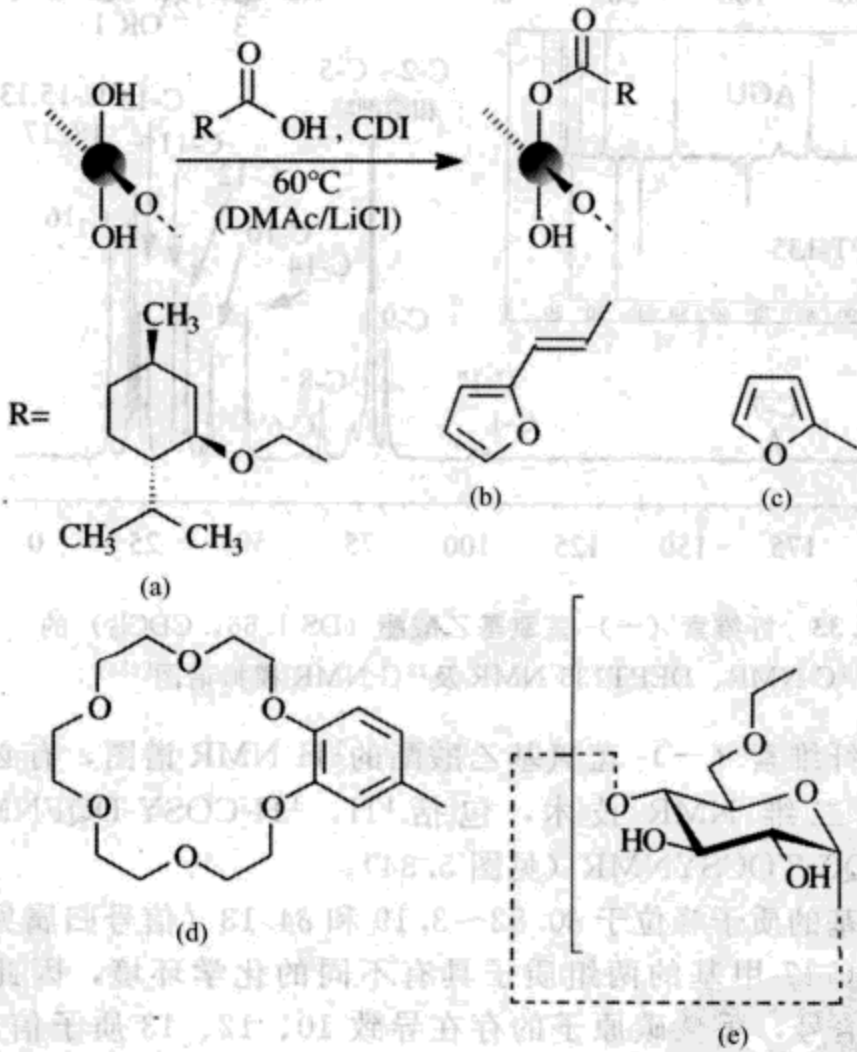


图 5.32 羧酸与纤维素 CDI 原位活化的酯化产物：

- (a) (–)- 盖氧基乙酸；(b) 3-(2-呋喃基)-丙烯酸；(c) 呋喃-2-羧酸；
(d) 4'-碳酸苯并-18-冠-6；(e) 羧甲基-β 环糊精^[234]

通过对照模拟谱图和 DEPT 135 NMR 分析，可以对各峰进行指认（见图 5.33），除了 AGU 的碳原子峰（ $\delta 103.7 \sim 60.1$ ），(–)- 盖氧基乙酸的酯基碳原子峰介于 $\delta 81.0$ (C-9) 和 $\delta 16.9$ (C-16)（谱图全解析见第 12 章），因为取代基具有手性，C-16 和 C-17 化学位移不等，所以在 $\delta 16.9$ 和 $\delta 21.3$ 处有两个分离峰。受 6-OH 酯化反应的影响，C-6 峰出现在 $\delta 62.4$ (C-6s)，此外， $\delta 101.6$ 处的信号为 C-1 峰，C-1 邻位的 C-2 带有盖氧基乙酸酯。对比取代和未取代 C-2、C-6 的信号强度，发现大体积的盖氧基乙酸酯取代伯醇的速度更快。

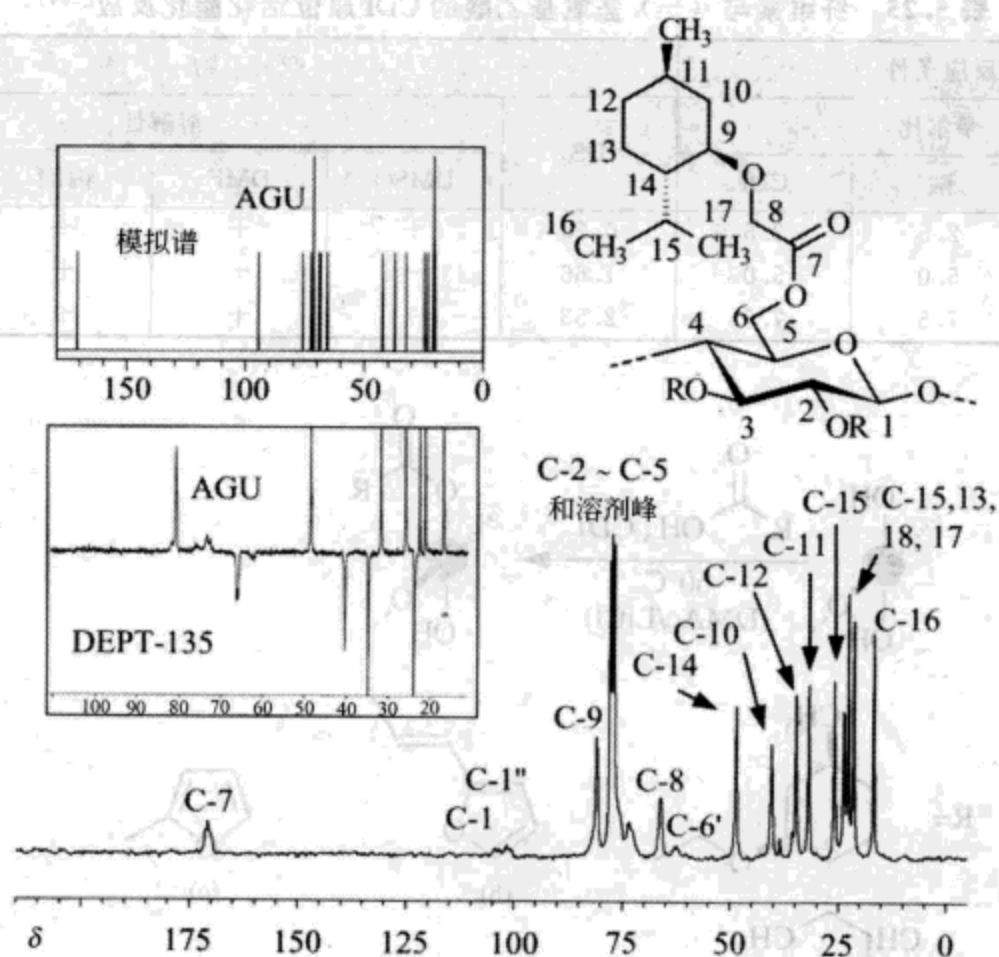


图 5.33 纤维素 (I)- 酞氧基乙酸酯 (DS 1.66, CDCl_3) 的 ^{13}C NMR、DEPT135 NMR 及 ^{13}C NMR 模拟谱图^[234]

为了完全解析纤维素 (I)- 酞氧基乙酸酯的 ^1H NMR 谱图, 有必要采用图谱模拟技术和不同二维 NMR 技术, 包括 ^1H , ^1H -COSY-DQFNMR、HSQC-DEPTNMR 和 HSQC-TOCSYNMR (见图 5.34)。

酞氧基乙酸酯基的质子峰位于 $\delta 0.82 \sim 3.19$ 和 $\delta 4.13$ (信号归属见本书实验部分), C-16 甲基和 C-17 甲基的两组质子具有不同的化学环境, 因此在 $\delta 0.82$ 和 $\delta 0.92$ 有两个分离信号, 手性碳原子的存在导致 10、12、13 质子信号发生分裂, 因此, 在 $\delta 0.87$ 和 $\delta 1.67$ (H-12 和 H-12'), $\delta 0.93$ 和 $\delta 2.08$ (H-10 和 H-10'), $\delta 0.99$ 和 $\delta 1.64$ (H-13 和 H-13') 有峰出现, AGU 的信号出现在 $\delta 3.42 \sim 4.98$ 。NMR 谱图表明该酯结构均一, 无副反应发生或杂质存在。

以樟脑-10-磺酸对纤维素进行 CDI 原位活化酯化反应, 仅引入极少量的磺酸酯基, 不能获得手性的纤维素磺酸酯。在制备低分子量醇的磺酸酯的反应中, CDI 活化法的效率很低, 多糖的反应结果也是如此^[228]。

不饱和酯的双键可用于后续的连接反应或接枝反应, 但要制备可溶性多糖酯, 需以这些反应加以抑制, 因此, 需在温和的反应条件下, 进行不饱和羧酸的酯化改性, 对此, CDI 活化法非常有用, 尽管在制备端基带双键的多糖酯的同时, 可能引入共价连接的咪唑基, 丙烯酸与多糖的反应如图 5.35 所示。

但是, 采用 CDI 原位活化法, 仍可制备纤维素 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯, 最大

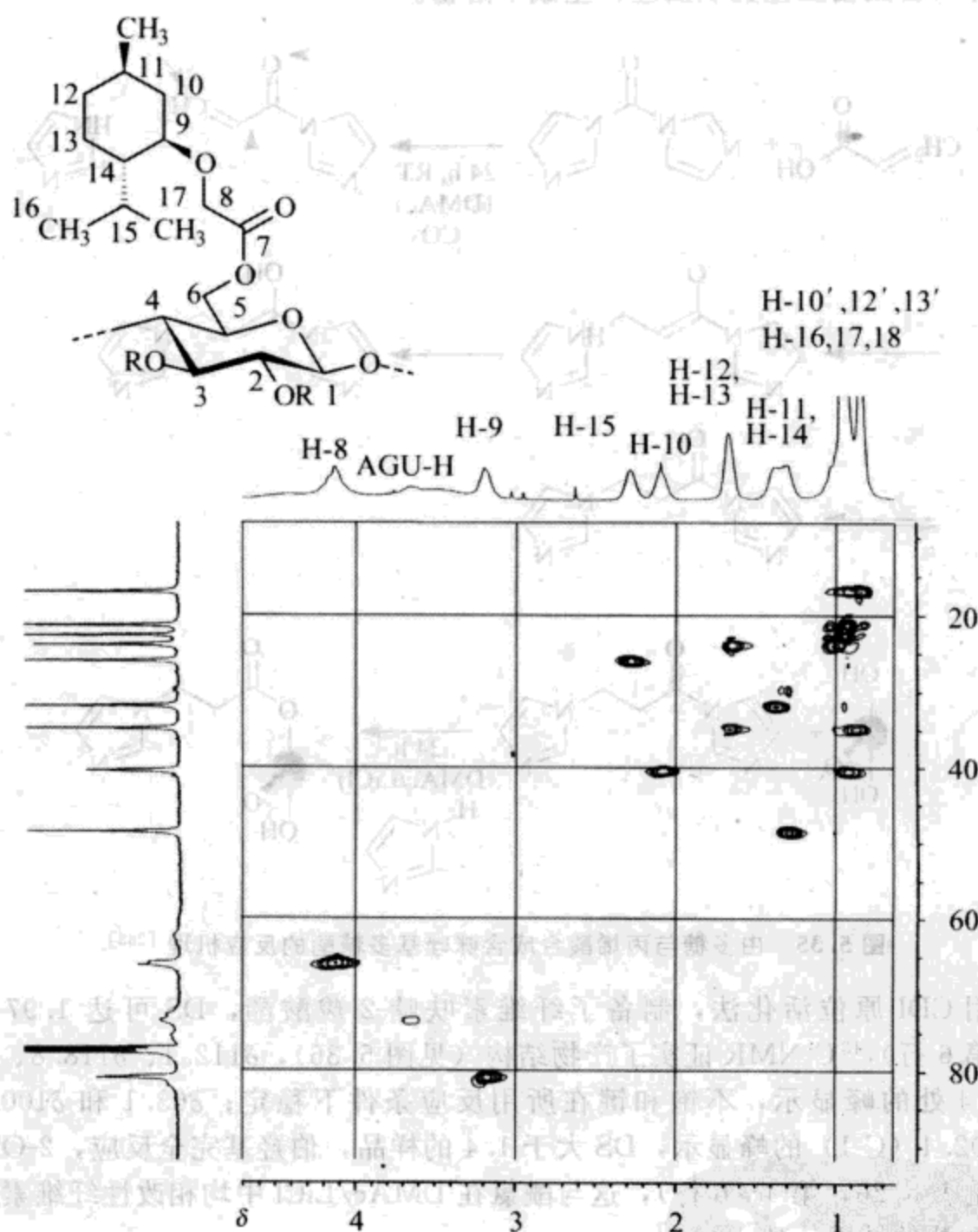


图 5.34 纤维素 (I)-酞氧基乙酸酯 (DS 1.66, CDCl_3) 的 HSQC NMR 谱图

(据 DS 和酯基分布不同, $\text{R}=\text{H}$ 或酯基^[234])

DS 达 1.52, 产物的新沉淀可溶, 分离干燥后, 产物变得不可溶, 这明显是由于发生了自交联反应。低 DS 的纤维素 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯在 $\text{DMSO}-d_6$ 中的 ^{13}C NMR 谱有特征峰出现: $\delta 165.3$ 为酯羰基碳特征峰; $\delta 150.1$ (C-10)、 $\delta 145.8$ (C-13)、 $\delta 116.5$ (C-12)、 $\delta 112.5$ (C-11) 为呋喃环特征峰; $\delta 145.8$ (C-9)、 $\delta 131.6$ (C-8) 为双键特征峰; $\delta 60.2 \sim 102.9$ 为 AGU 特征峰; 反应优先发生在 C-6, 产物不含杂质 (氧化反应和咪唑)。对纤维素 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯的剩余羟基进行丙酰化, 制备完全改性的衍生物, 分析该产物在 CDCl_3 中的 ^1H NMR 谱图, 计算 DS, 结果如表 5.26 所示。纯的纤维素 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯及其丙酰化产物均需

避光保存，否则会发生交联反应，生成不溶物。

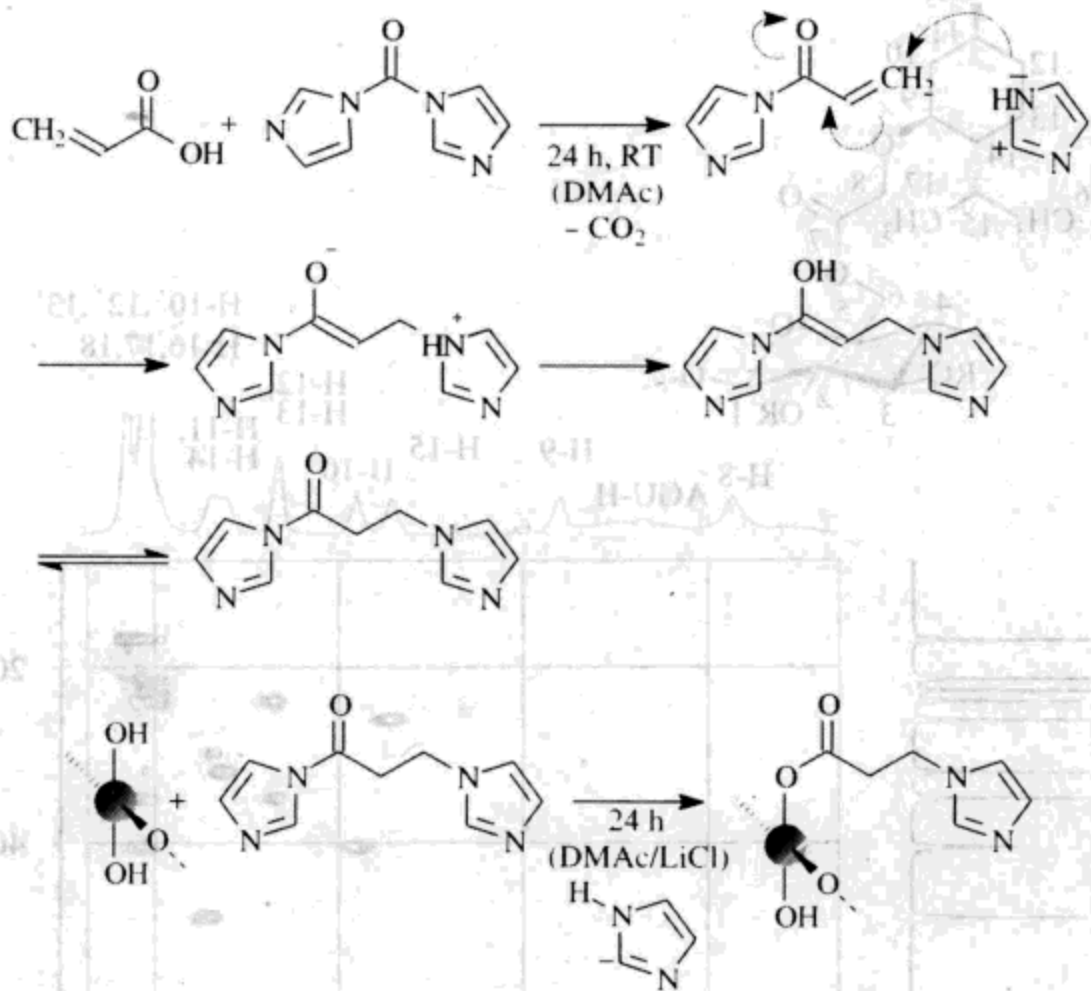


图 5.35 由多糖与丙烯酸合成含咪唑基多糖酯的反应机理 [233]

采用 CDI 原位活化法，制备了纤维素咪喃-2-羧酸酯，DS 可达 1.97（见表 5.26，第 6 行）， ^{13}C NMR 证实了产物结构（见图 5.36）， $\delta 112.1$ 、 $\delta 118.8$ 、 $\delta 143.4$ 和 $\delta 157.4$ 处的峰显示，不饱和键在所用反应条件下稳定； $\delta 63.1$ 和 $\delta 100.2$ （C-1'）、 $\delta 102.4$ （C-1）的峰显示，DS 大于 1.4 的样品，伯羟基完全反应，2-OH 部分反应（见表 5.26，第 4~6 行），这与酰氯在 DMAc/LiCl 中均相改性纤维素制备咪喃-2-羧酸酯的结果一致 [170,235]。

表 5.26 纤维素与咪喃-2-羧酸、3-(2-咪喃基)-丙烯酸和 4'-碳酸苯并-18-冠-6 的 CDI 原位活化酯化反应 [234]

反应条件					产物		
序号	羧酸	摩尔比			DS	溶解性	
		AGU	Acid	CDI		DMSO	DMF
1	3-(2-咪喃基)-丙烯酸	1	2.5	2.5	0.52	+	—
2		1	5.0	5.0	1.14	+	+
3		1	7.5	7.5	1.52	+	—
4	咪喃-2-羧酸	1	2.5	2.5	0.80	+	+
5		1	5.0	5.0	1.49	+	+
6		1	7.5	7.5	1.97	+	+
7	(苯并-18-冠-6)-4'-羧酸	1	2.3	2.3	0.40	+	—

GPC 结果显示, 如通常在部分改性的纤维素衍生物中所见, 纤维素不饱和酯有两个峰, 低分子量部分可认为是以分子扩散模式溶解的聚合物。改性中, 高分子链的降解程度很低 (见表 5.27), 产物 4 的 DP 为 275 (原料 Avicel® DP 280)。

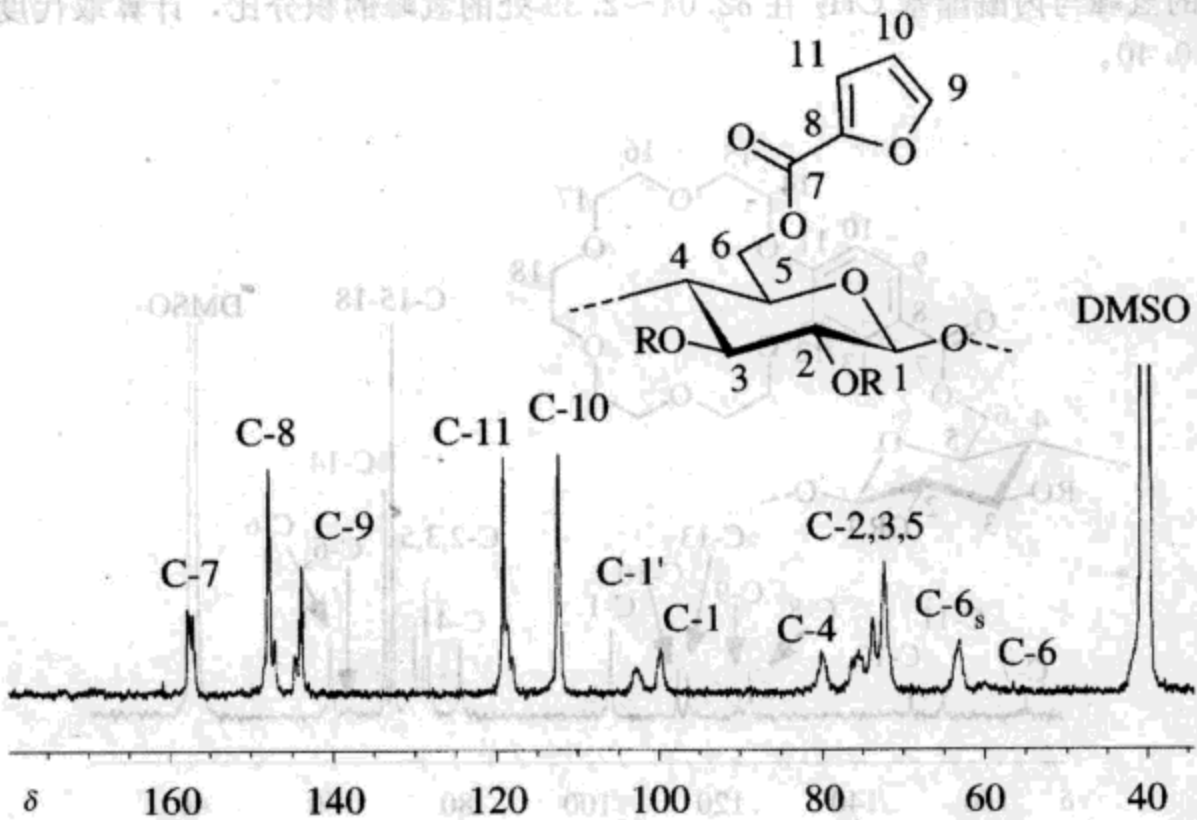


图 5.36 纤维素呋喃-2-羧酸酯 (DS=1.91) 的¹³C NMR 谱图^[234]

对于纤维素呋喃-2-羧酸酯, 可通过交联反对该衍生物进行后续改性 (见应用部分), 如膜的加工成型。交联反应可由 UV 辐照引发^[234]。

表 5.27 纤维素 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯 (表 5.26, 第 3 行) 和呋喃-2-羧酸酯 (第 4、6 行) 的 GPC 结果

序号	DS	M _w /(g/mol)	DP
3	1.52	7.21×10 ⁴	208
4	0.80	6.55×10 ⁴	275
6	1.97	6.91×10 ⁴	200

注: 在 DMSO 中。

可采用氰尿酰氯将氨基化冠醚与纤维素二乙酸酯耦合, 向纤维素骨架引入冠醚结构^[236], 所得产物可用作碱离子敏感电极的基底材料。更有效的办法是以 4'-碳酸苯并-18-冠-6 对纤维素进行酯化改性, 反应可在 DMAc/LiCl 中均相进行, 也可通过 CDI 原位活化法完成。产物纤维素 4'-碳酸苯并-18-冠-6 酯是一种白色物质, 溶于 DMSO (见表 5.26), 其¹³C NMR 谱图分辨率高 (见图 5.37), 除了取代 AGU 的碳原子峰 (δ60.1~103.2), 酯羰基碳原子峰位于 δ165.8, 冠醚基位于 δ69.3、δ70.4, 芳基碳原子峰位于 δ113.3、δ114.8、δ148.5 和 δ153.3。

全乙酰化纤维素 4'-碳酸苯并-18-冠-6 酯在 CDCl_3 中的 ^1H , ^1H -COSY NMR 谱图如图 5.38 所示, 图中只有七个 AGU 质子信号, 表明改性不会导致信号分裂, ^1H NMR 谱可用于计算 DS (见 8.3), 根据重复单元在 $\delta 5.00$ (H-3)、 $\delta 4.85$ (H-2) 处的氢峰与丙酰酯基 CH_2 在 $\delta 2.04 \sim 2.39$ 处的氢峰的积分比, 计算取代度, 得 DS 为 0.40。

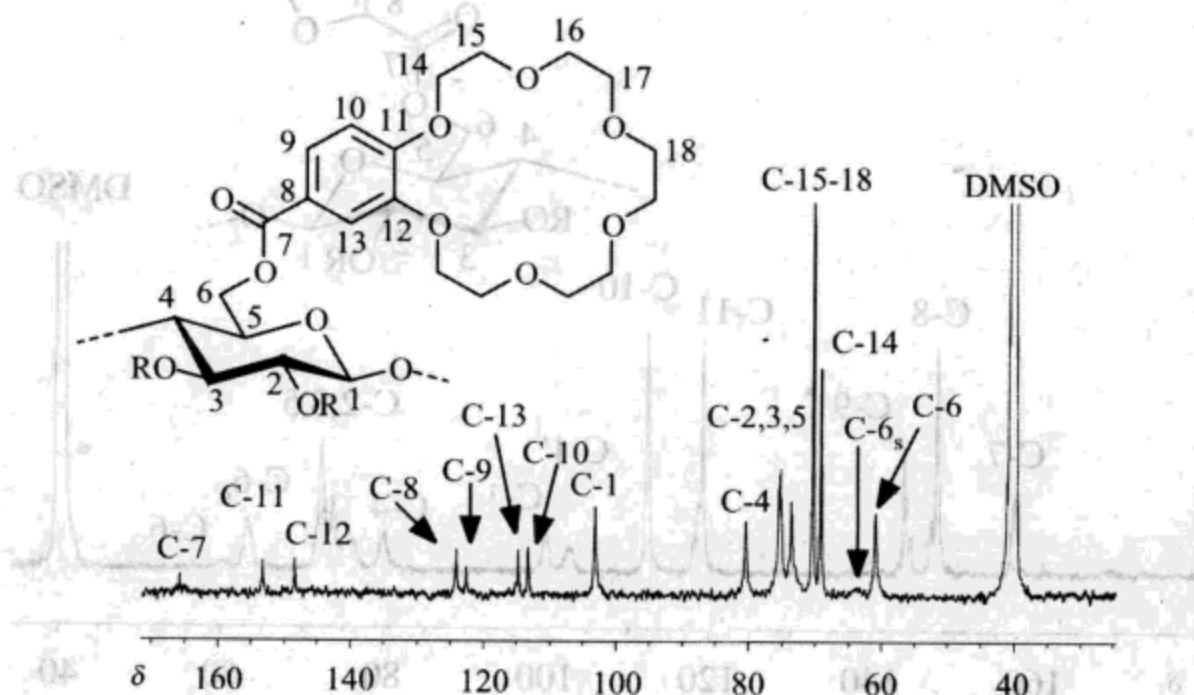


图 5.37 纤维素 (苯并-18-环-6)-4'-羧酸酯的 ^{13}C NMR 谱图 (DS=0.4^[234])

2-甲酰基甲基- β -环糊精与壳聚糖发生 Schiff 反应^[237], 或采用交联剂, 如聚阴离子试剂^[238], 均可将环糊精基团与多糖分子相连。另一种有效的方法是用羧甲基- β -环糊精改性纤维素, 反应前须先用盐酸-甲醇 (20%, 质量分数) 将羧甲基- β -环糊精的商业钠盐转变为自由酸式, CDI 原位活化和多糖改性需在 DMSO 中一步完成, 否则, 在单独的活化反应中, 羧甲基- β -环糊精的剩余羟基会与生成的咪唑化合物发生分子间交联, 生成不可溶沉淀。因此, 溶于 DMAc/LiCl 的纤维素直接与羧甲基- β -环糊精和 CDI, 在 80°C 反应 16h, 得到不溶产物。FTIR 的羰基信号 [1724cm^{-1} 处的 $\nu(\text{C}=\text{O})$] 可确认酯基的生成, 而且, 在 1655cm^{-1} 和 1426cm^{-1} 处有羧甲基- β -环糊精未反应的羧基峰。

可以金刚烷羧酸改性纤维素, 引入大环酯基, DS 可达 1.41^[169], 与酰氯改性和 TosCl 原位活化法相比, 该反应与脂肪酸的酯化反应结果类似, 即 CDI 法反应效率相对较低, 但副反应更少 (得白色产物), 后处理也更容易。在纤维素金刚烷酸酯的 ^{13}C NMR 谱图 (DS 0.68, 见图 5.39) 中, 改性 AGU 的碳原子峰位于 $\delta 60.1 \sim 103.7$; 金刚烷酸酯的碳原子峰位于 $\delta 28.2$ (C-10、C-12、C-15)、 $\delta 36.8$ (C-11、C-14、C-17) 和 $\delta 39.16$ (C-9、C-13、C-16), C-8 峰与溶剂峰重叠; C-6 ($\delta 63.1$, C-6s) 和 C-1 ($\delta 100.4$, 与带金刚烷酸酯基的 C-2 相连的 C-1) 发生信号分裂; 表明取代基在 AGU 上分布较均匀, 尽管金刚烷存在空间位阻, 但反应没有

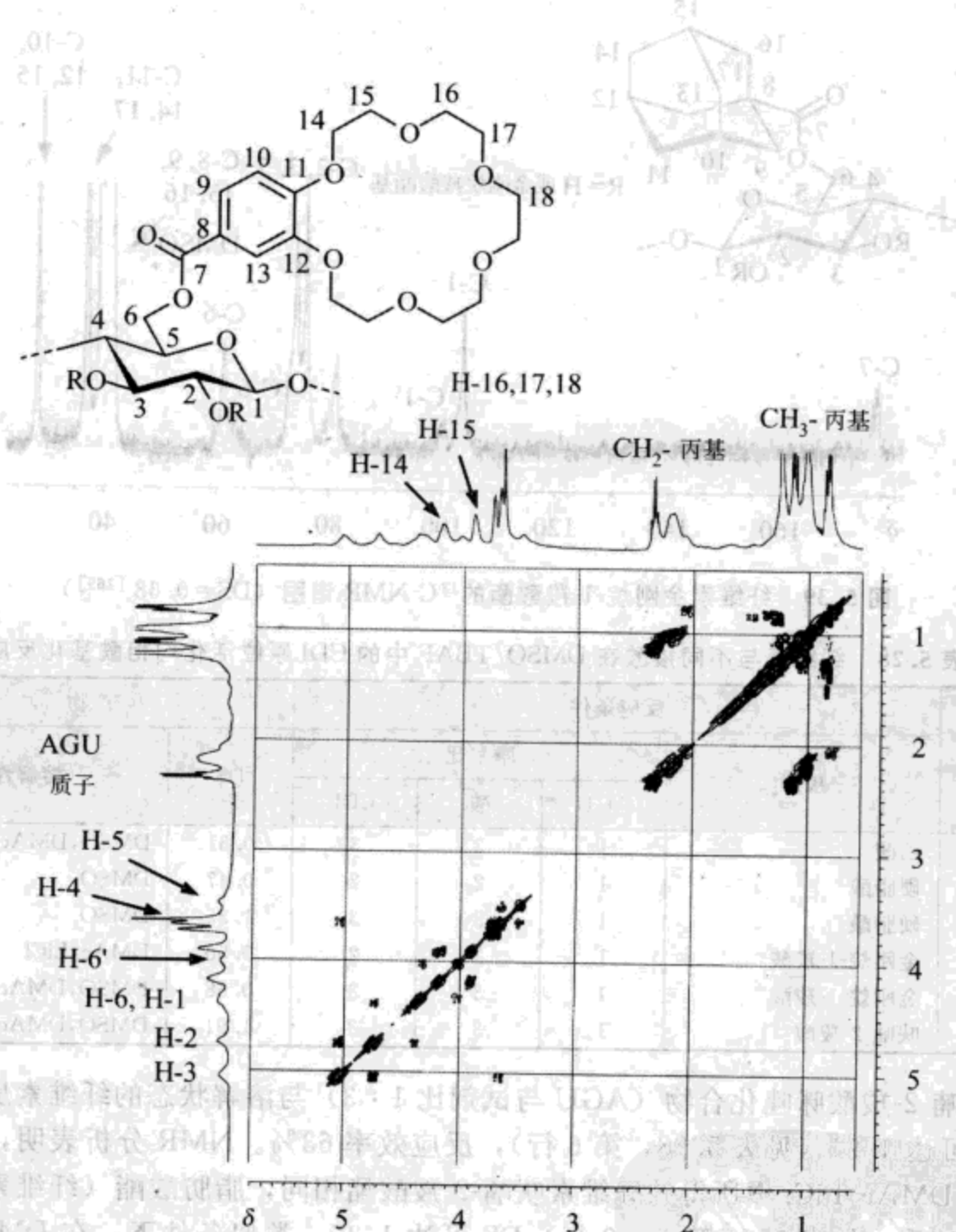


图 5.38 全丙酰化纤维素 (苯并-18-环-6)-4'-羧酸酯的 ^1H , ^1H -COSY NMR 谱图 (CDCl_3)^[324]

明显空间选择性。

除了 DMAc/LiCl, DMSO/TBAF 也是纤维素 CDI 原位活化均相酰基化反应的良好介质, 表 5.28 为乙酸、硬脂酸、金刚烷-1-羧酸和呋喃-2-羧酸的咪唑化合物与纤维素在 DMSO/TBAF 中的反应结果。

NMR 谱图显示, 无副反应发生 (在无水条件下, 四烷基氟化铵易分解^[174]), 乙醇沉降可以获得纯的纤维素酯, $\delta 7.13$ 和 $\delta 7.70$ 处 (^1H NMR) 峰的缺失表明, 乙醇洗涤可完全去除咪唑。

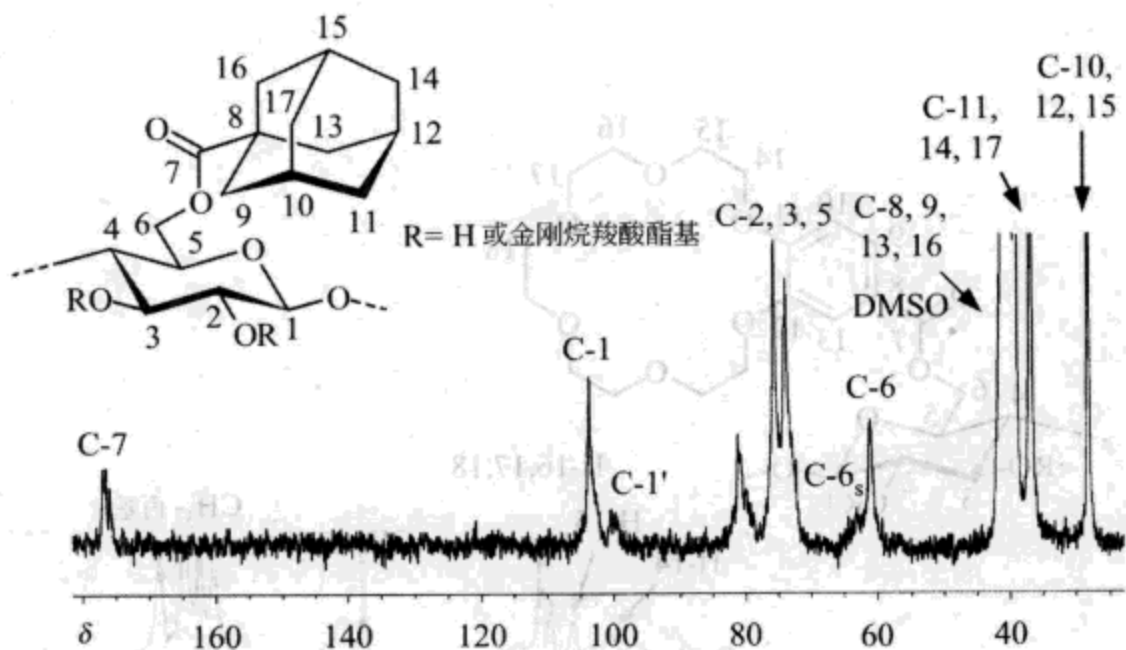


图 5.39 纤维素金刚烷-1-羧酸酯的¹³C NMR 谱图 (DS=0.68 [169])

表 5.28 纤维素与不同羧酸在 DMSO/TBAF 中的 CDI 原位活化均相酰基化反应

序号	反应条件				产物	
	羧酸	摩尔比			DS	溶解性
		AGU	酸	CDI		
1	乙酸	1	3	3	0.51	DMSO, DMAc
2	硬脂酸	1	2	2	0.47	DMSO
3	硬脂酸	1	3	3	1.35	DMSO
4	金刚烷-1-羧酸	1	2	2	0.50	DMAc/LiCl
5	金刚烷-1-羧酸	1	3	3	0.68	DMSO, DMAc
6	呋喃-2-羧酸	1	3	3	1.91	DMSO, DMAc, Py

呋喃-2-羧酸咪唑化合物 (AGU 与试剂比 1 : 3) 与溶解状态的纤维素反应，产物 DS 可达 1.91 (见表 5.28，第 6 行)，反应效率 63%。NMR 分析表明，取代方式与在 DMAc/LiCl 中所得的纤维素呋喃-2-羧酸酯相同，脂肪酸酯 (纤维素乙酸酯和硬脂酸酯，见表 5.28 第 1~3 行) DS 可达 1.35。类似条件下，在 DMAc/LiCl 中，以酸酐改性纤维素，得 DS 1.2 的乙酸酯、DS 2.1 的硬脂酸酯，表明在含水介质中 (采用了 TBAF 三水合物)，短链脂肪酸 (C₂~C₄) 的咪唑化合物水解活性较高，长链脂肪酸的咪唑化合物水解活性更低。

在 DMSO/TBAF 中，产物纤维素金刚烷-1-羧酸酯的 DS 值可达 0.68，¹³C NMR (见图 5.39) 分析结果出人意料：以 DMSO/TBAF 为反应介质，大体积的金刚烷酸酯基在 2 位反应更显著，原因可能在于产物酯发生了部分水解。GPC 分析显示，聚合物降解程度低 (约 13%)。

在 DMAc/LiCl 或 DMSO/TBAF 中，羧酸/CDI 通过原位生成的羧酸咪唑化合物对纤维素进行均相酯化，是制备不同纯纤维素酯的最简单、应用最广泛的方法之一，这种方法很容易推广应用于其他多糖。与 DCC 或 TosCl 作活化剂不同，CDI 活化反

应无明显副反应, 如果 CDI 第一步被完全转化为咪唑化合物, 即使采用 DMSO 为溶剂, 也没有明显副反应发生; 产物仅有微弱降解, 且产物纯度高、易溶。带活性质子 (如 OH、NH₂)、端基双键或三键的羧酸, 需在酯化前进行基团保护。

CDI 在 DMSO/TBAF 中的原位活化法是最简便的纤维素均相酯化方法之一, 即使没有经验的操作人员也很容易完成。对于芳酸, 与 DMAc/LiCl 中的反应相比, CDI 活化法效率更高、操作更简单。尽管在脂肪酸咪唑化合物体系中, 水的存在会导致收率下降, 但对于带复杂酯基的纤维素衍生物, 如无法通过羧酰氯或酸酐制备的具有不饱和键和手性中心的衍生物, CDI 活化法仍然是最有前途的合成方法之一。

5.2.4 氯化亚胺

以氯化亚胺原位活化羧酸是一种温和、高效的方法。首先, DMF 与不同氯化剂 (包括磷酰氯、三氯化磷、更常用的是草酰氯) 反应生成氯化亚胺, 再以氯化亚胺对羧酸进行活化, 生成氯化亚胺羧酸活化物, 醇与氯化亚胺羧酸活化物反应, 释放出绝大部分气态副产物, 溶剂 DMF 获得再生 (见图 5.40 [239])。

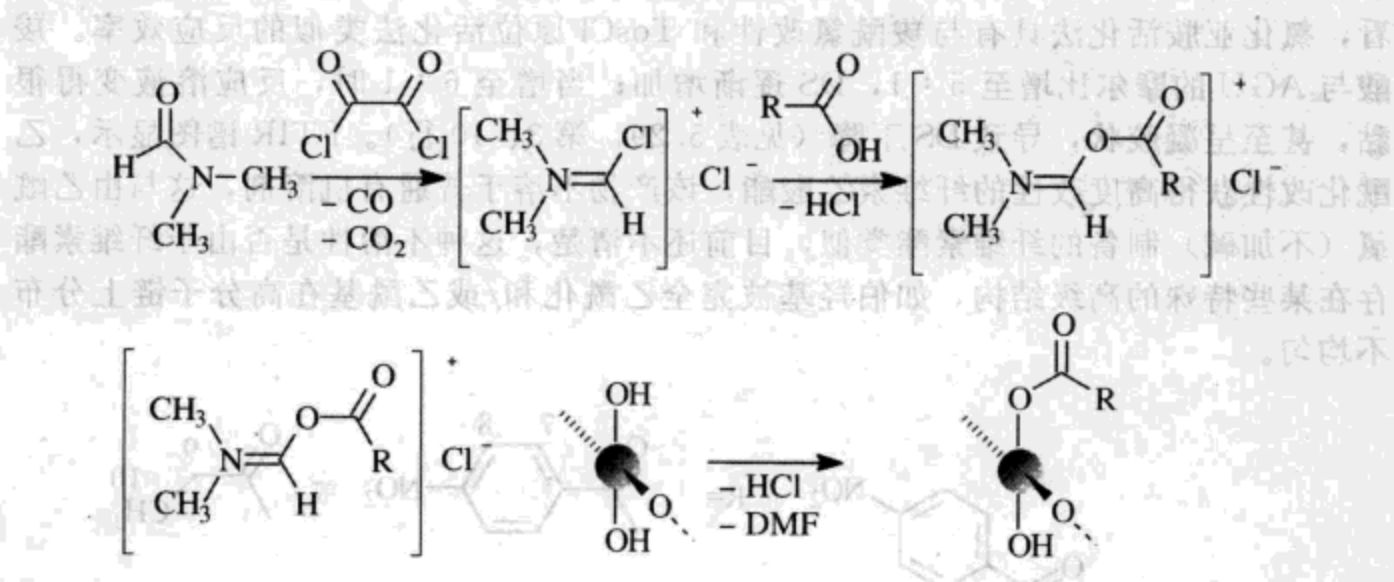


图 5.40 由氯化亚胺原位活化法制备纤维素酯^[239]

该反应条件非常温和, 中间体的合成在 -20℃ 下进行, 所得中间体稳定, 无副反应伴生 (如生成 HCl 或酰氯), 因此, 该方法适合用于多糖的酯化改性。

采用氯化亚胺活化法, 长链脂肪酸 (硬脂酸和棕榈酸)、芳酸 (4-硝基苯甲酸)、金刚烷-1-羧酸与纤维素的酰化反应很容易进行。氯化亚胺的生成和羧酸改性以 “一锅反应” 进行, 即 DMF 被冷却至 -20℃, 小心加入草酰氯, 待气体停止释放后, 再加入羧酸。NMR 结果显示, 乙酸参与的反应明显, 将上述混合物加入纤维素的 DMAc/LiCl 溶液, 60℃ 加热 16h。产物的后续纯化过程简单易操作, 因为绝大部分气态副产物已从反应混合物中释放出来, 而且溶剂 DMF 在反应最后一步获得再生 (见图 5.40)。

在脂肪酸与纤维素反应结束后, 停止搅拌, 纤维素酯会浮在反应混合物表面, 通过简单过滤、乙醇洗涤, 可高收率地分离得到产物, 反应条件及结果如表 5.29 所示。

表 5.29 羧酸与纤维素在 DMAc/LiCl 中的氯化亚胺活化酯化反应^[239]

序号	羧酸	摩尔比			产物	
		AGU	酸	草酰氯	DS	溶解性
1	硬脂酸	1	3	3	0.63	DMSO/LiCl
2	硬脂酸	1	5	5	1.84	THF, CHCl ₃
3	棕榈酸	1	6	6	1.89	DMSO, DMAc, THF
4	金刚烷-1-羧酸	1	1	1	0.47	DMSO/LiCl
5	金刚烷-1-羧酸	1	3	3	1.20	DMAc, DMSO, DMF
6	金刚烷-1-羧酸	1	6	6	0.66	DMSO
7	4-硝基苯甲酸	1	1	1	0.30	DMSO/LiCl
8	4-硝基苯甲酸	1	2	2	0.52	DMSO
9	4-硝基苯甲酸	1	3	3	0.94	DMSO
10	4-硝基苯甲酸	1	6	6	0.66	DMSO/LiCl

氯化亚胺活化法适用于合成所有类型的纤维素酯，对脂肪酸酯和脂环酸酯的合成尤其有效，可得 DS 1.89、THF 可溶的产物（见表 5.29，第 3 行）。从反应效率看，氯化亚胺活化法具有与羧酰氯改性和 TosCl 原位活化法类似的反应效率。羧酸与 AGU 的摩尔比增至 5 : 1，DS 逐渐增加；当增至 6 : 1 时，反应溶液变得很黏，甚至呈凝胶状，导致 DS 下降（见表 5.29，第 3、10 行）。FTIR 谱图显示，乙酰化改性获得高度改性的纤维素乙酸酯，该产物不溶于普通有机溶剂，这与由乙酰氯（不加碱）制备的纤维素酯类似，目前还不清楚，这种不溶性是否由于纤维素酯存在某些特殊的高级结构，如伯羟基被完全乙酰化和/或乙酰基在分子链上分布不均匀。

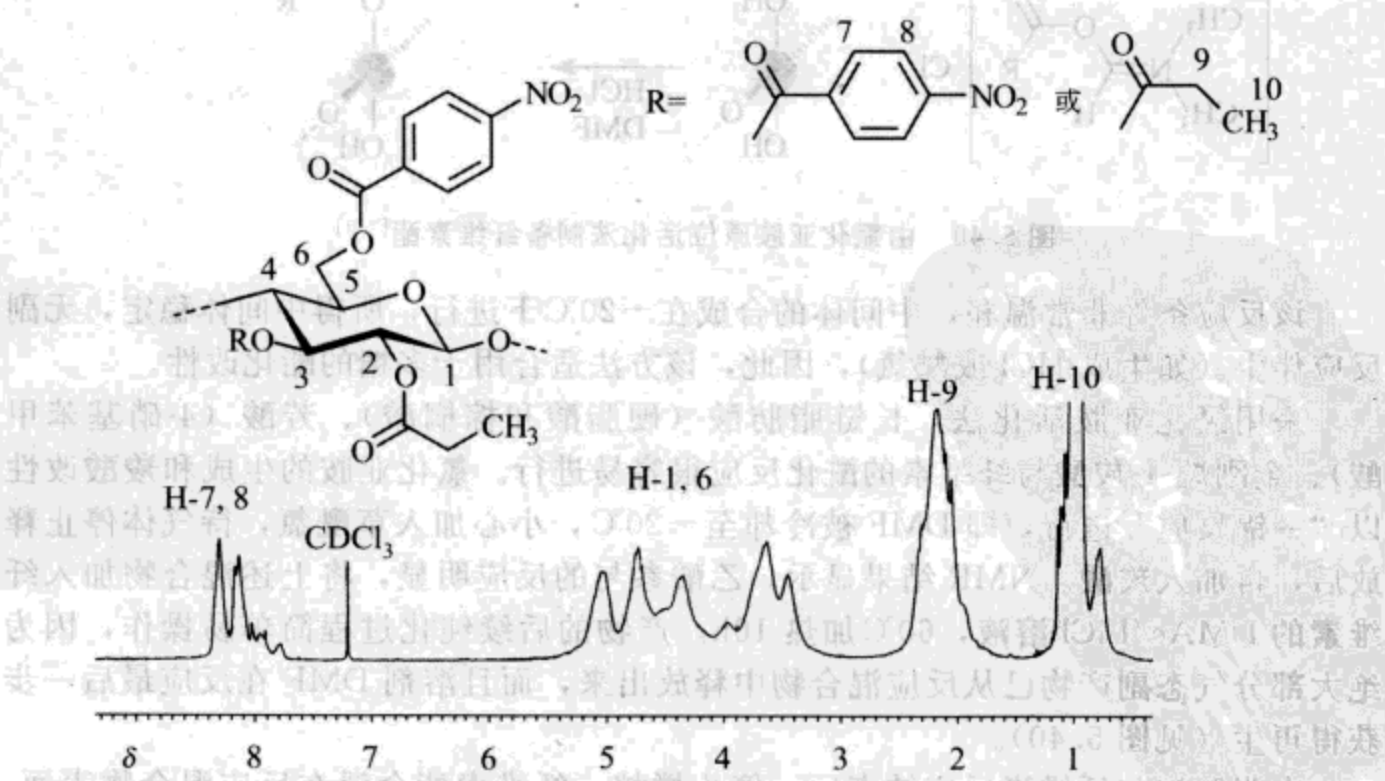


图 5.41 全丙酰化纤维素硝基苯甲酸酯的¹H NMR 谱图 (DS=0.94^[239])

图 5.41 为纤维素硝基苯甲酸酯（见表 5.29，第 9 行）的全丙酰化产物在 CDCl_3 中的高分辨 ^1H NMR 谱，AGU 质子峰位于 $\delta 3.46\sim 5.04$ （H-1~H-6），硝基苯甲酸酯的芳香质子峰位于 $\delta 7.79\sim 8.31$ （H-7，H-8），丙酰基质子峰位于 $\delta 2.10$ （H-9）和 $\delta 0.99$ （H-10）。 ^{13}C NMR 和 FTIR 分析表明，无副反应，如氯化反应或氧化反应伴生，但产物仍含有 2% 氯。

GPC 检测进一步证明，该反应条件温和，纤维素链的降解可以忽略，以 Avicel[®] DP 280 为反应物，可得 DP 240 的纤维素金刚烷酸酯（DS 1.20，见表 5.29，第 5 行）、DP 280 的纤维素 4-硝基苯甲酸酯（DS 0.52，见表 5.29，第 8 行）和 DP 250 的纤维素硬脂酸酯（DS 1.84，见表 5.29，第 2 行），表明氯化亚胺活化法要比 TosCl 原位活化法或羧酰氯改性更温和。由上可见，氯化亚胺活化法同时具有反应效率高和反应条件非常温和的优点。

氯化亚胺活化法可望用于合成复杂酯或敏感酯，如带不饱和键或手性中心的酯。氯化亚胺活化法是至今成本最低的原位活化法，有望大规模应用。DMF 是多糖改性的良好介质，氯化亚胺活化法以 DMF 为溶剂和反应剂，可用于多种多糖的均相酯化改性。氯化亚胺活化法有望进一步扩大原位活化反应的应用范围。

5.3 其他多糖酯化新方法

5.3.1 酯交换法

采用酯交换法，以棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯对淀粉和纤维素进行酰基化改性，制备了多糖长链脂肪酸酯^[240]。在 DMF 中，纤维素与硬脂酸甲酯非均相反应，所得衍生物 DS 0.38，表明该反应效率相对较低^[241]。采用不同反应剂和催化剂，可提高反应效率，甲醇钾能明显提高 DMSO 中制备淀粉棕榈酸甲酯的 DS 值^[242]，催化剂浓度对反应影响很大（见表 5.30），当催化剂用量为 0.1mol/（mol AGU）时，可得最大 DS 1.5。以短链脂肪酸甲酯代替棕榈酸甲酯，DS 无明显变化。

表 5.30 催化剂（甲醇钾）浓度对淀粉与棕榈酸甲酯反应产物的 DS 值的影响^[241]

反应条件				产物
摩尔比			温度/℃	DS
AGU	棕榈酸甲酯	KOCH ₃		
1	1	0.100	100	0.59
1	3	0.010	100	0.18
1	3	0.025	100	0.60
1	3	0.050	100	0.86
1	3	0.100	80	0.71
1	3	0.100	90	0.90
1	3	0.100	100	1.10
1	3	0.100	110	0.86
1	3	0.200	100	0.98
1	5	0.100	100	1.48
1	10	0.100	100	1.52

在新的多糖酯交换酯化反应中, 羧酸乙烯酯有着重要作用, 反应生成不稳定的乙烯醇, 乙烯醇迅速转化为乙醛, 使平衡向产物方向移动 (见图 5.42)。多糖与乙烯酯的酯交换反应可采用不同酶为催化剂, 在无水有机介质中使用酶是一个意义重大的进步, 因为目前一致公认: 有机溶剂会损坏酶的二级或三级结构, 在有机溶剂如 DMSO 或 DMF 中, 酶会失去活性。

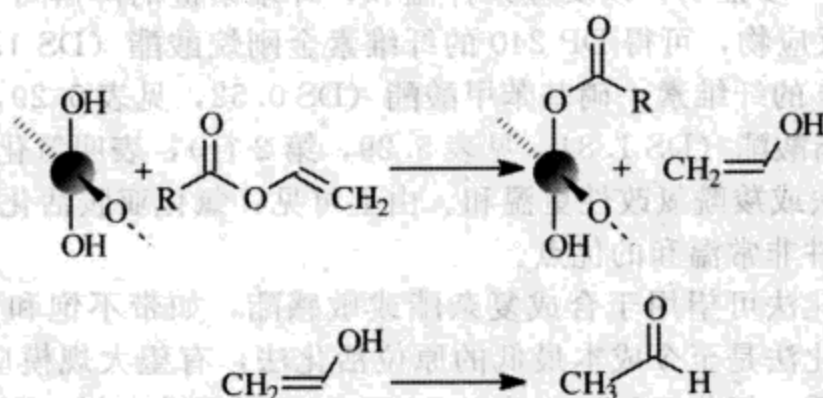


图 5.42 多糖与羧酸乙烯酯进行酯交换反应生成的乙烯醇转化为乙醛的反应

近期研究表明, 酶如碱性蛋白酶 Proleather 和脂肪酶可部分溶解于有机介质, 并保持其生物活性^[243], 因此, 丙烯酸乙烯酯与菊粉在 DMF 中的酯交换反应采用了 *Bacillus subtilis* 碱性蛋白酶 Proleather FG-F 为催化剂^[244], 改变丙烯酸乙烯酯与菊粉的摩尔比、酶浓度, 可控制产物的 DS (见图 5.43), 最大 DS 为 0.45。¹H, ¹³C-COSY NMR、¹H, ¹H-COSY NMR 和 HBMC NMR 分析表明, 反应优先在呋喃果糖残基的 6 位进行。

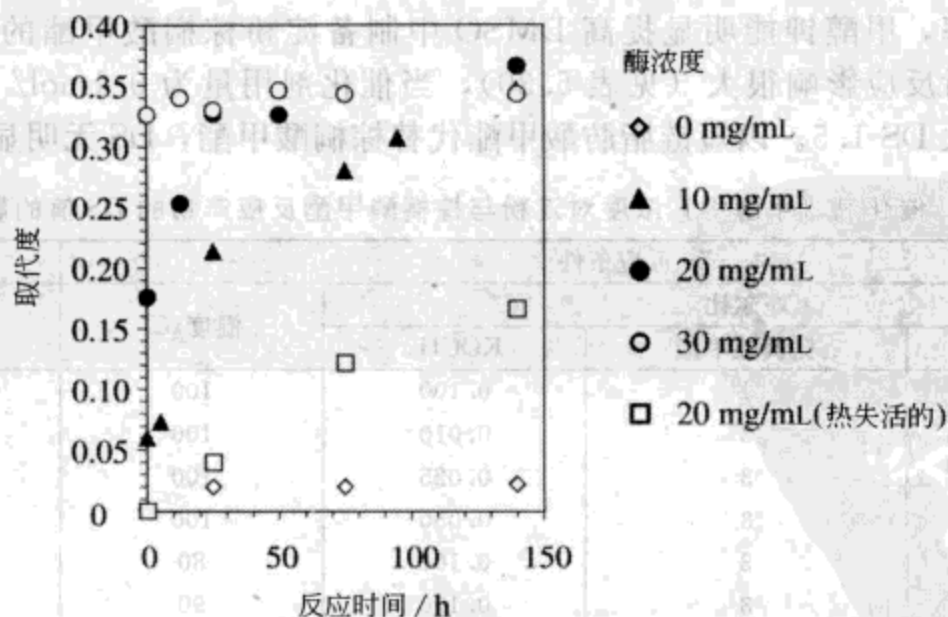


图 5.43 Proleather FG-F 浓度对菊粉与丙烯酸乙烯酯反应的影响^[244]

在 Proleather FG-F (一种来源于 *Bacillus* sp. 的碱性蛋白酶) 或脂肪酶 AY (来源于 *Candida rugosa*) 存在下, 在无水 DMSO 中, 丙烯酸乙烯酯可对右旋糖苷

进行改性。NMR 结构分析表明, 改性在 AGU 的 2、3 位等量进行^[243]。Proleather FG-F 体系的反应效率及产物 DS 如表 5.31 所示。

蛋白酶 N 对羧酸乙烯酯与淀粉的酯交换反应具有很高的催化活性, AGU 的 2 位具有高选择性, 第 9 章将对这部分内容进行介绍^[245]。因为纯的化学酯化反应无法得到选择性改性的产物, 为了抑制纯的化学酯化反应 (非酶催化), 酯交换反应需在 DMSO 中、39℃ 下进行, 优化实验结果如表 5.32 所示, 结果表明, 可对产物 DS 值进行精确调节。

表 5.31 在 Proleather FG-F 酶催化下, 试剂用量 (按理论 DS 计算) 对右旋糖苷与丙烯酸乙烯酯的酯交换反应产物的 DS 值的影响^[243]

DS		反应效率/%
理论	实得	
0.10	0.072	71.4
0.20	0.151	75.7
0.30	0.224	74.6
0.40	0.315	78.9
0.50	0.370	74.1

表 5.32 试剂用量和反应时间对蛋白酶 N 催化的淀粉与乙酸乙烯酯的酯交换产物的 DS 值的影响^[245]

反应条件			产物
摩尔比		时间/h	DS
AGU	乙酸乙烯酯		
1	2.3	2	0.1
1	2.3	5	0.3
1	0.5	70	0.3
1	2.3	10	0.5
1	1.0	70	0.5
1	1.5	70	0.7
1	2.3	20	0.8
1	2.3	30	0.9
1	2.3	70	1.0
1	4.0	70	1.1

采用固定化的脂肪酶 B (Novozym 435) 和自由 (SP-525) *Candida Antarctica* 脂肪酶 B 催化硬脂酸乙烯酯与纳米粒子的酯交换反应, 在表面活性剂/异辛烷/水微乳液中, 40℃ 反应 48h, 得 DS 0.8 的淀粉酯。与 DMSO 中的酯交换反应不同, 该反应选择性地在重复单元的 6 位进行。尽管 *Candida Antarctica* 脂肪酶 B 被固定在大孔树脂上, 其仍能与淀粉纳米粒子充分接触。

固定在带有淀粉的胶囊上的 *Candida Antarctica* 脂肪酶 B 仍保持活性, 可催化硬脂酸乙烯酯的酰基化反应 (40℃, 24h), 所得产物 DS 0.5。去除改性淀粉纳米粒子上的表面活性剂, 这些粒子可分散在 DMSO 或水中, 且仍保持其纳米尺

寸^[246]。在 NMMO 中，纤维素与乙酸乙烯酯也可进行均相酯交换反应，但产物 DS 较低，仅为 0.3^[125]。

表 5.33 催化剂盐对淀粉与乙酸乙烯酯反应产物的 DS 值的影响^[245]

反应条件		淀粉乙酸酯
催化剂	酰化剂	DS
DMAP,Py	乙酸酐	1.88
Na ₂ HPO ₄	乙酸酐	1.00
Na ₂ HPO ₄	乙酸乙烯酯	1.00
NH ₄ Cl	乙酸乙烯酯	0.95
NaCl	乙酸乙烯酯	1.00
K ₂ CO ₃	乙酸乙烯酯	2.18
Na ₂ CO ₃	乙酸乙烯酯	1.82

表 5.34 多糖类型对多糖与乙酸乙烯酯/ Na₂HPO₄ 的乙酰化产物的 DS 值的影响

低聚糖/多糖	产物	低聚糖/多糖	产物
类型	DS	类型	DS
Hylon VII	1.00	糖原	0.10
玉米淀粉	0.92	α-环糊精	1.00
小麦淀粉	0.94	β-环糊精	1.00
土豆淀粉	0.88	普鲁兰	0.75
糯玉米淀粉	0.82	黑曲霉多糖	1.00

注：反应条件 40h，70℃，乙酸乙烯酯/ AGU（摩尔分数）2.3/1，2%（质量分数）Na₂HPO₄^[245]。

除了酶可催化羧酸乙烯酯的酯交换反应，许多盐也可以催化该反应。在有机介质如 DMSO 中，无机盐和蛋白酶 N (*Bacillus subtilis*) 催化所得产物的 DS 相当^[245]，两种反应均有很好的选择性（见第 9 章）。表 5.33 和表 5.34 列出了可催化酯交换反应的盐、淀粉与乙酸乙烯酯反应产物的 DS 值以及淀粉种类对 DS 的影响情况，由表可见：K₂CO₃ 为催化剂时，产物 DS 最高，但选择性最好的催化剂是 Na₂HPO₄ 和 Na₂CO₃，NaCl 也具有催化活性，但是，无机盐催化反应的详细机理目前还不清楚。

除了简单的乙酰化反应，盐催化酯交换反应还可用于高效制备许多不同结构的淀粉酯，包括长链脂肪酸衍生物、卤代衍生物和不饱和酯，与淀粉乙酸酯一样，这些衍生物在 2 位具有显著的选择性。表 5.35 为盐催化酯交换反应制备淀粉酯的反应结果。

盐催化的酯交换反应也可用于纤维素的酯化改性，如采用 DMSO/TBAF 为反应溶剂^[27]，乙酸乙烯酯为酰化剂，纤维素酯的 DS 可达 2.72，反应条件及结果如表 5.36 所示。

DMSO/TBAF 中的酯交换反应比乙酸酐参与的乙酰化反应效率要高很多，因为乙酸酐反应体系的溶剂含水，试剂水解相对较快，产物 DS 较低。除了乙酸酯，

也可有效制备各种脂肪酸酯和芳香酸酯，结果如表 5.37 所示。

表 5.35 不同催化剂下，羧酸乙烯酯发生酯交换反应所得淀粉酯的反应结果^[245]

反应条件		淀粉酯		
乙烯酯	催化剂	DS	收率/%	$\nu_{C=O}/\text{cm}^{-1}$
乙酸酯	Na_2HPO_4	1.00	90	1730
丙酸酯	Na_2HPO_4	1.00	85	1728
丁酸酯	Na_2HPO_4	1.00	70	1728
月桂酸酯	Na_2HPO_4	0.70	78	1730
氯乙酸酯	Na_2CO_3	1.00	82	1720
三甲基乙酸酯	Na_2CO_3	1.10	90	1725
苯甲酸酯	Na_2HPO_4	0.92	90	1718
丙烯酸酯	Na_2HPO_4	0.90	80	1715
甲基丙烯酸酯	Na_2HPO_4	0.92	88	1705
巴豆酸酯	Na_2CO_3	0.95	82	1710
肉桂酸酯	Na_2CO_3	1.02	90	1703

表 5.36 纤维素（2.9%）与乙酸乙烯酯在 DMSO/TBAF（16.6%）中的催化乙酰化反应

反应条件			产物			
摩尔比		催化剂/mg	部分 DS		DS	溶解性
AGU	乙酸乙烯酯		O-6	O-2/O-3		
1	2.3	—	0.49	0.55	1.04	DMSO
1	2.3	20	0.52	0.55	1.07	不可溶
1	1.5	20	0.39	0.24	0.63	不可溶
1	10	20	0.98	1.74	2.72	DMSO

注：1. 反应条件为 40℃ 反应 70h^[27]。
2. 催化剂为 KH_2PO_4 与 Na_2HPO_4 混合催化剂。

表 5.37 纤维素与羧酸乙烯酯在 DMSO/TBAF（16.6%）中的酰基化反应^[27,129]

反应条件					纤维素酯
酰化剂	摩尔比		时间/h	温度/℃	DS
	AGU	酰化剂			
丁酸乙烯酯	1	2.3	70	40	0.86
月桂酸乙烯酯	1	2.3	3	60	1.24(剑麻纤维)
月桂酸乙烯酯	1	2.3	70	40	1.47
月桂酸乙烯酯	1	10	70	40	2.60
苯甲酸乙烯酯	1	2.3	70	40	0.95

$[(\text{Bu}_2\text{SnCl})_2]\text{O}$ 是一种有效的新催化剂，可催化部分水解的淀粉甲酸酯与 $\text{C}_1\sim\text{C}_5$ 烯烃脂肪酸酯间（如月桂酸乙烯基酯）的酯交换反应^[247]。羧酸异丙酯，如乙酸异丙酯或 *N*-异亚丙基衍生物（如 *N*-异亚丙基甲基碳酸酯、*N*-异亚丙基乙基碳酸酯、*N*-异亚丙基苄基碳酸酯）均可作为酰化剂。此外，亚甲基二乙酸酯和乙

烯基二乙酸酯也可发生酯交换反应，在乙酸钠催化下，纤维素与亚甲基二乙酸酯和乙烯基二乙酸酯可在 DMSO/多聚甲醛体系中均相进行酯交换反应^[190]。

5.3.2 通过开环反应的酯化反应

环二元羧酸酐（如丁二酸酐、顺丁烯二酐或苯二甲酸酐）的开环反应，我们已经在第 4 章进行了介绍，环二元羧酸酐参与的酯化反应，与脂肪单酸和芳香单酸的对称酸酐参与的酯化反应类似。

一种新的、效率更高的开环反应是：纤维素与双烯酮或双烯酮/羧酸酐反应，生成纯的纤维素乙酰乙酸酯，或纤维素乙酰乙酸酯与纤维素羧酸酯的混合物（见图 5.44^[248]）。

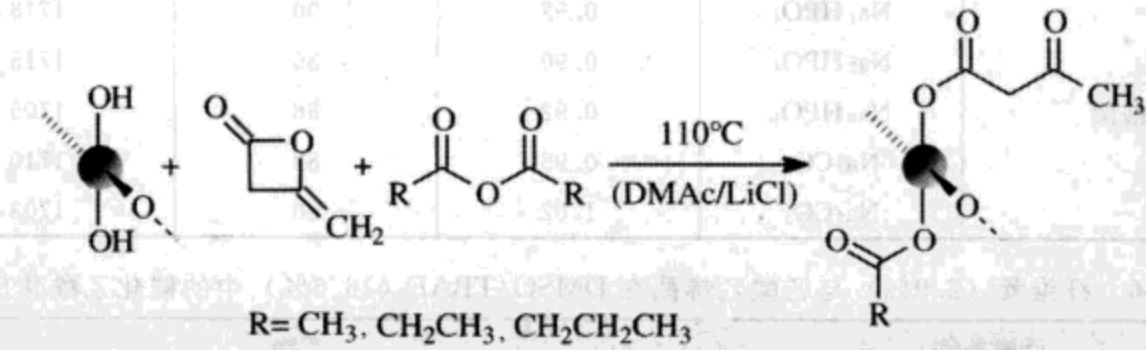


图 5.44 由双烯酮/羧酸酐制备纤维素乙酰乙酸酯和羧酸酯的混合酯^[248]

由乙酰乙酸叔丁酯不能得到高 DS 的产物^[249,250]，对此，双烯酮开环反应是一种好的替代方法，因为这两个反应的中间体都是乙酰乙烯酮^[251,252]，反应可在 DMAc/LiCl 或 NMP/LiCl 中进行，100~110℃，双烯酮的乙酰乙酰化反应非常迅速，30min 内可反应完全（见表 5.38）。

表 5.38 微晶纤维素（MCC）或硬木纸浆（HWP）与双烯酮在 DMAc/LiCl 中制备纤维素乙酰乙酸酯

反应条件				反应产物	反应条件				反应产物
纤维素	摩尔比		DS		纤维素	摩尔比		DS	
	AGU	双烯酮				AGU	双烯酮		
MCC	1	0.90	0.78		HWP	1	0.90	0.84	
MCC	1	1.80	1.58		HWP	1	1.80	1.70	
MCC	1	2.70	2.38		HWP	1	2.70	2.91	

注：反应条件 110℃，反应 30min^[248]。

双烯酮/羧酸酐对多糖的改性反应，具有与双烯酮相同的反应效率和可预见性，可在无催化剂参与下制备纤维素乙酯与乙酰乙酸乙酯（丙酯、丁酯）的混合酯（见表 5.39）。这种改性可以得到具有不同溶解性的产物，根据 DS 值不同，产物可溶于由水到 THF 的不同溶剂，且产物 DP 基本不受影响。纤维素乙酰乙酸酯的 T_g 与衍生物的 DP 无关，但受 DS 值影响很大。

可利用 NMP 的开环反应制备纤维素离子酯，在 NMP/LiCl 体系中，NMP 与 TosCl 发生 Vielsmeier-Haack 反应，所得中间体再与葡聚糖均相反应，生成纤维素

表 5.39 110℃，微晶纤维素（MCC）或硬木纸浆（HWP）与双烯酮/酸酐（乙酸、丙酸或丁酸酐）在 DMAc/LiCl 中制备混合酯纤维素乙酰乙酸酯（AA）羧酸酯（CE）^[248]

纤维素	反应条件				反应产物		
	DS						
	AGU	酸酐		双烯酮	CE	AA	总
HWM	1	乙酸酐	0.30	0.30	0.20	0.26	0.46
MCC	1	乙酸酐	0.30	1.50	0.32	1.39	1.71
HWP	1	乙酸酐	1.50	0.30	1.32	0.37	1.69
HWP	1	乙酸酐	1.50	1.50	1.07	1.71	2.78
HWP	1	丙酸酐	0.50	0.50	0.45	0.47	0.92
MCC	1	丙酸酐	1.50	1.50	1.50	1.40	2.90
HWP	1	丁酸酐	0.30	0.30	0.22	0.24	0.46
MCC	1	丁酸酐	1.50	1.50	1.33	1.37	2.70

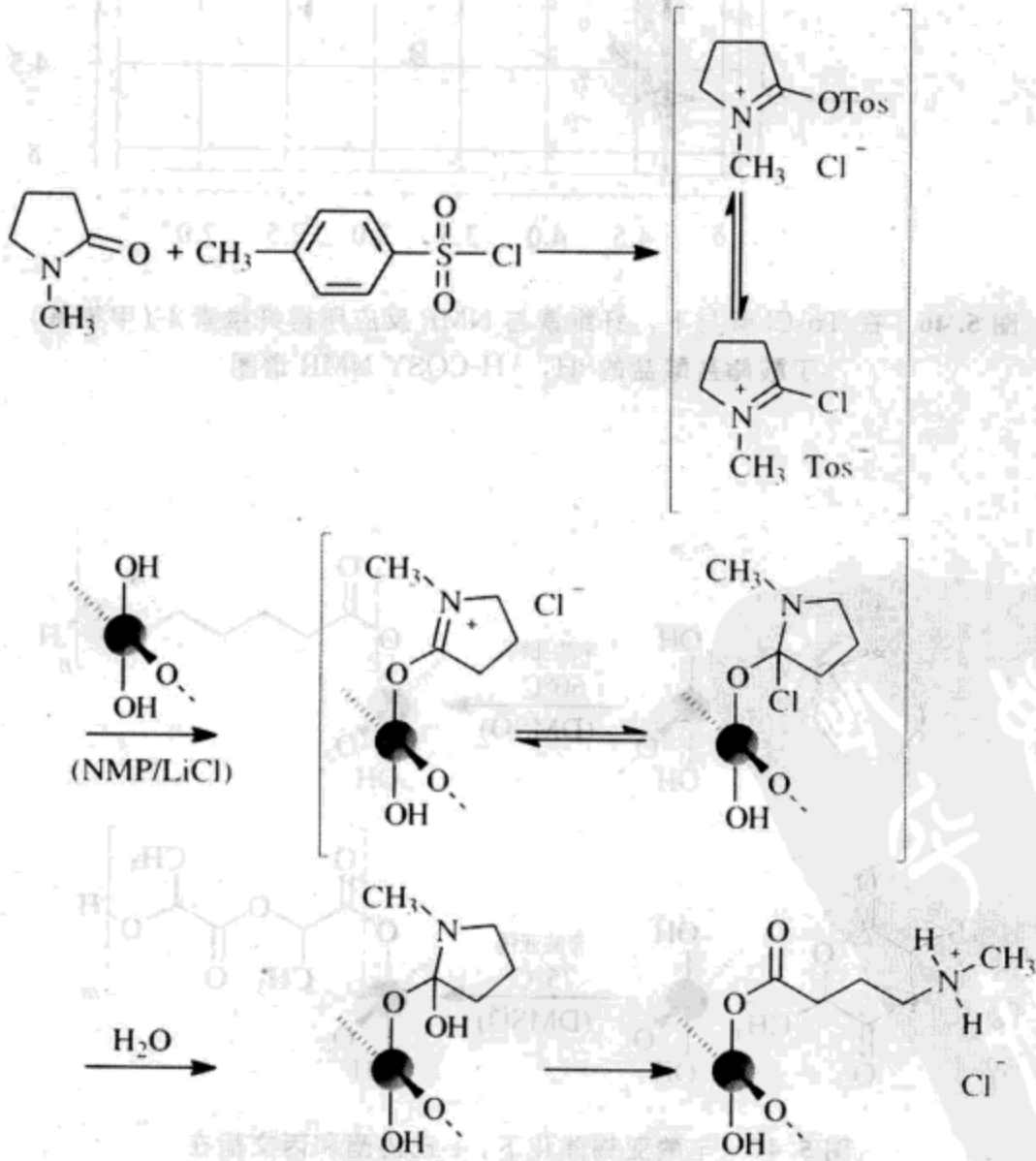


图 5.45 纤维素与 NMP 在 TosCl 参与下的反应途径^[253]

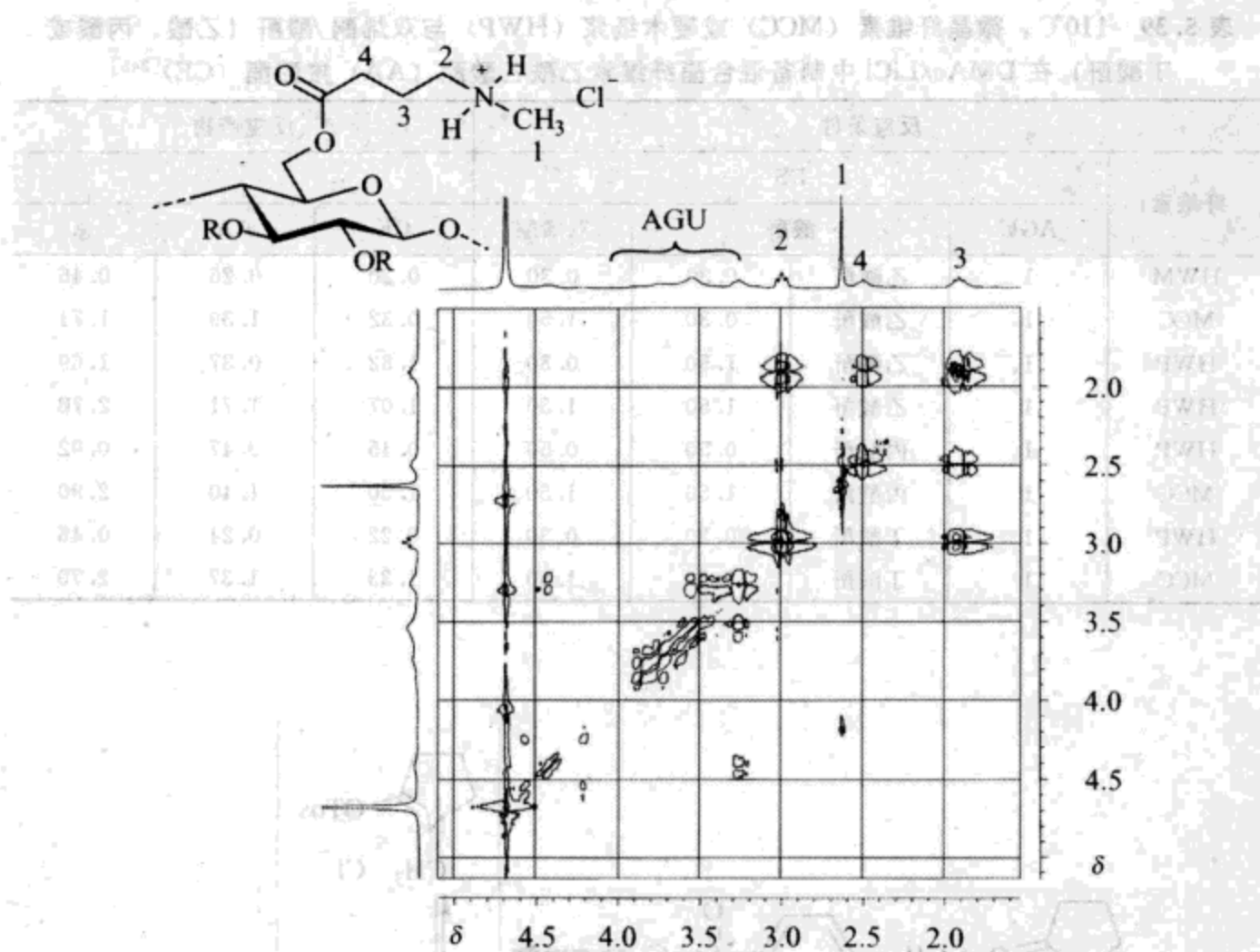


图 5.46 在 TosCl 参与下, 纤维素与 NMP 反应所得纤维素 4-(甲氨基)丁酸酯盐酸盐的 ^1H , ^1H -COSY NMR 谱图

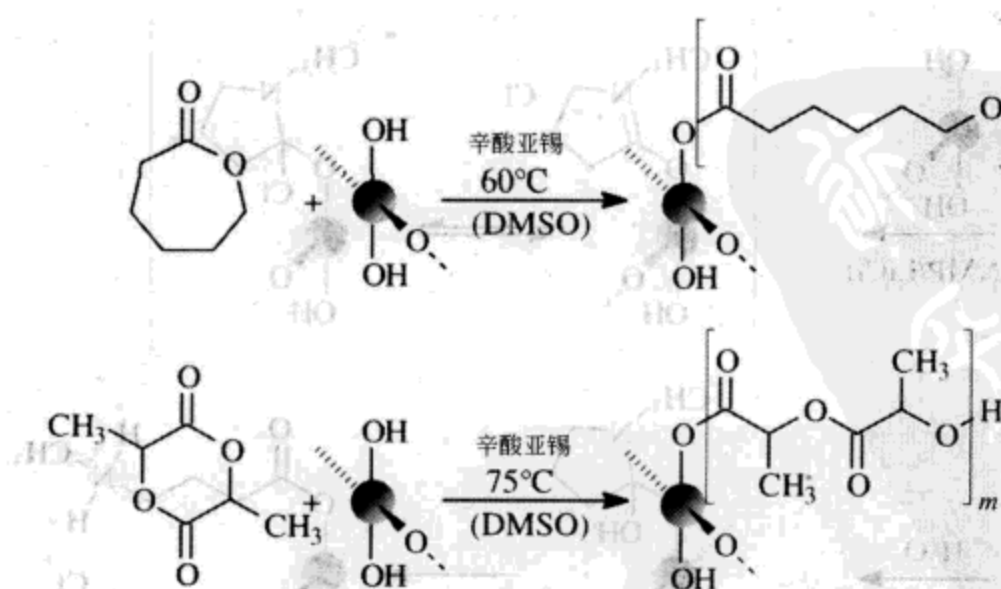


图 5.47 辛酸亚锡催化下, ϵ -己内酯和丙交酯在 DMSO 中通过开环反应制备普鲁兰衍生物^[254]

的环状氯化亚胺衍生物，该衍生物按两种途径水解（见图 5.45），一种途径分解为 NMP 和纤维素，另一种途径则生成纤维素酯。¹³C NMR 结果显示，后一反应的速度明显更快，最终生成纤维素 4-(甲氨基)丁酸酯盐酸盐^[253]，¹H，¹H-COSY NMR 分析确认了产物结构（见图 5.46）。

内酯开环反应也被广泛用于多糖改性，但该反应通常导致接枝聚合反应。有意义的是，在 DMSO 中，以辛酸亚锡为催化剂，通过开环反应，ε-己内酯和丙交酯可改性普鲁兰（见图 5.47），由¹H NMR 分析，普鲁兰-6-羟基己酸酯 DS 介于 0.10~0.75（见表 5.40），该聚合物具有良好的热学性质和结晶度^[254]。

表 5.40 由 L-丙交酯开环反应制备的普鲁兰双乳酸酯的 DS 和溶解性^[254]

反应条件		反应产物			
摩尔比		DS	溶解性		
AGU	丙交酯		H ₂ O	甲醇	甲醇/丙酮
1	0.15	0.08	+	—	—
1	0.33	0.21	+	—	—
1	0.66	0.44	—	+	—
1	1.65	0.75	—	—	+

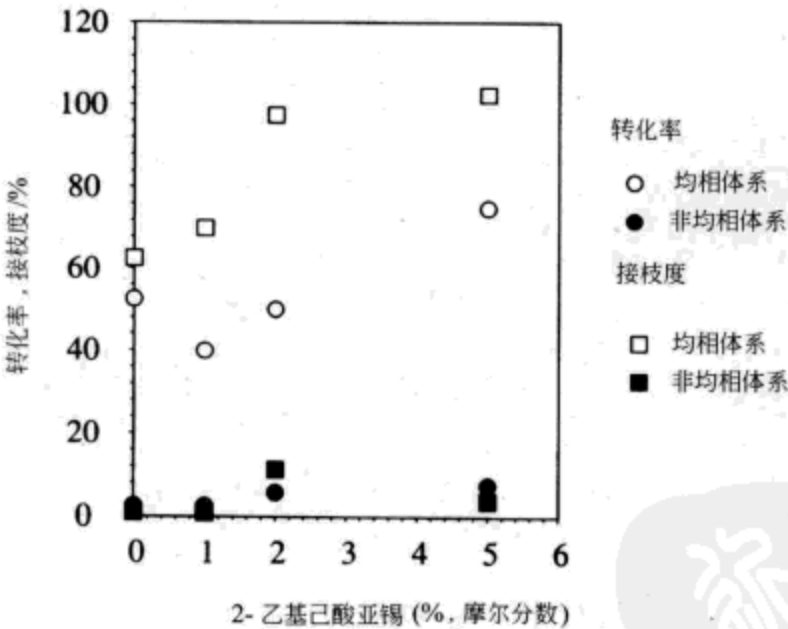


图 5.48 纤维素与 ε-己内酯在 DMSO/TBAF 中反应时，催化剂 2-乙基己酸亚锡浓度对反应转化率和产物支化度的影响^[255]

采用类似方法，以固定化酶 Novazym 435 为催化剂，在无水甲苯中，ε-己内酯可对淀粉纳米粒子进行酰基化改性，反应选择性地在 6 位进行^[246]。在非均相条件下，不能通过 ε-己内酯开环反应改性纤维素。在 TEA 存在下，纤维素与 ε-己内酯在 DMAc/LiCl 中均相反应，80℃ 反应 18h，可获得 DS 0.8 的纤维素 6-羟基己酸酯，该酯溶于 DMSO。以 2-乙基己酸亚锡为催化剂，在 DMSO/TBAF 中反应效率更高（见图 5.48），5%（摩尔分数）催化剂，60℃ 反应 4h，产物支化率 100%，该反应也可用于改性直链淀粉。但是，在 DMSO/四乙基铵氯化物中进行类似反

6 磺酸酯

多糖化学中常见的磺酸酯如图 6.1 所示，其中最常用的是对苯甲磺酸酯和甲磺酸酯，因为这两种酯制备容易，且具有水解稳定性。磺酸酯通常在有机叔碱或在水相碱性介质（NaOH、Schotten-Baumann 反应）中，以磺酰氯非均相制备，或在有机溶剂如 DMAc/LiCl 中均相制备。非均相反应的主要缺点在于反应时间长，需大比例过量的反应试剂，且大多数情况为磺酰氯过量。磺酸酯具有高反应活性，可原位进一步与未改性的羟基反应，生成不可溶的交联产物。此外，由于存在氯离子的亲核反应，产物氯含量相对较高。与此相反，采用均相反应，如纤维素在

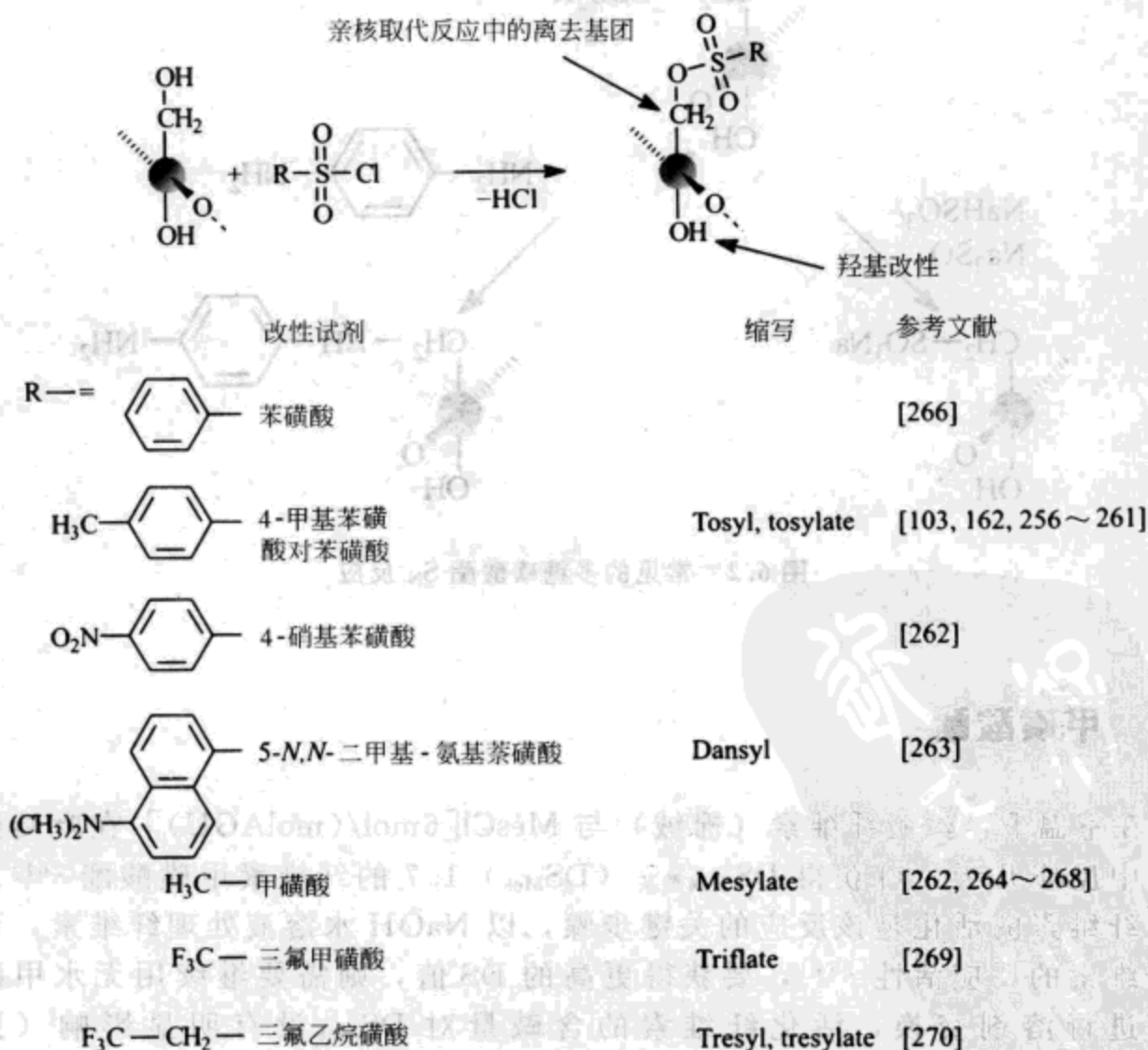


图 6.1 常见的多糖磺酸酯

DMAc/LiCl 中反应，得可溶性磺酸酯^[162]；事实上，TEA 存在下的 TosCl 均相苯甲磺酰化反应效率非常高。

由小分子醇的反应，我们知道，通过生成对应的磺酸酯，羟基可被转化为好的离去基团，易于进一步进行亲核取代反应。对多糖分子，亲核试剂，如卤离子，可以进攻多糖的碳原子，取代磺酸酯基，生成脱氧卤代物（见图 6.2）；除了 S_N 反应，亲核试剂也可对剩余羟基进行改性。

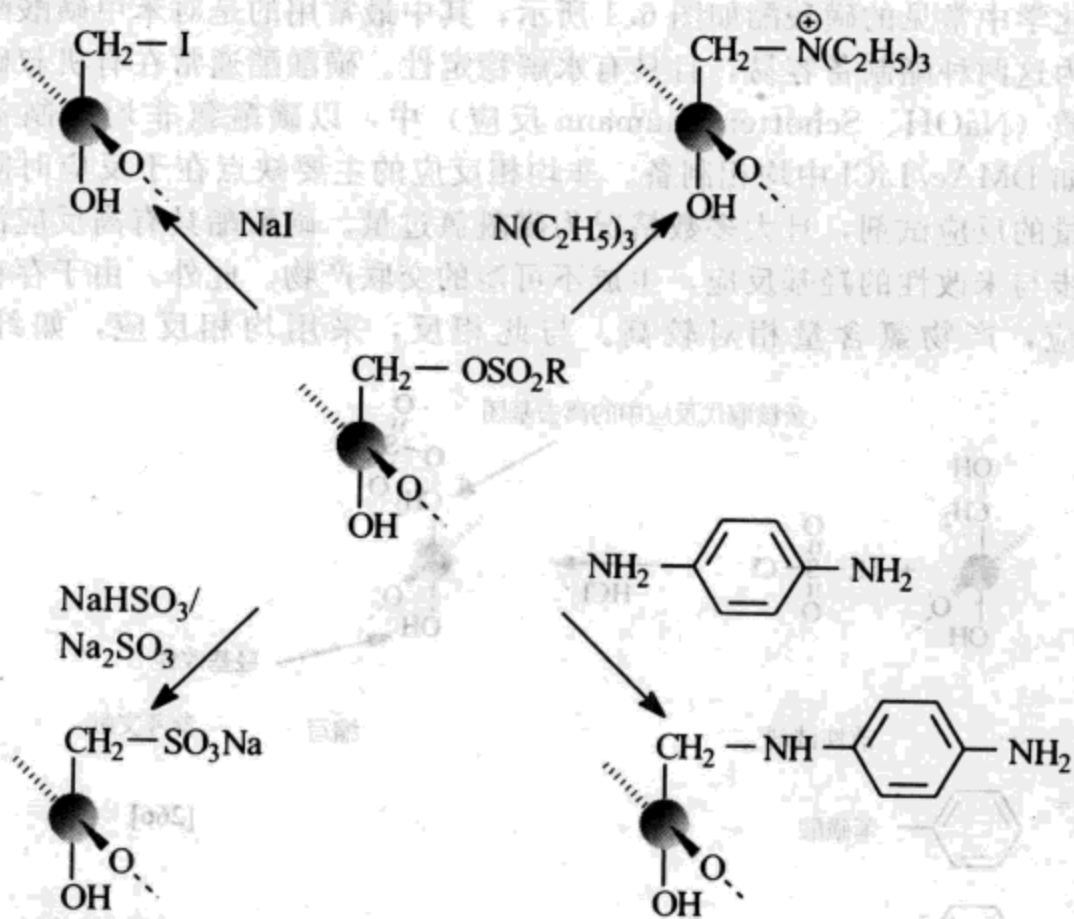


图 6.2 常见的多糖磺酸酯 S_N 反应

6.1 甲磺酸酯

在室温下，丝光纤维素（棉绒）与 MesCl[6mol/(molAGU)] 在吡啶浆状介质中反应几天，可获得 DS_{甲磺酰基} (DS_{Mes}) 1.7 的纤维素甲磺酸酯^[264]。对原料纤维素的活化是该反应的关键步骤，以 NaOH 水溶液处理纤维素，可增加纤维素的反应活性^[264]，要获得更高的 DS 值，则需要继续用无水甲醇和吡啶进行溶剂交换，活化纤维素的含碱量对 DS_{Mes} 没有明显影响（见表 6.1）。

甲磺酰化反应可在 28℃ 下进行，当升温至 57℃，副反应占主导地位，产物 DS_{Mes} 相对较低，脱氧氯代基含量却很高^[265]。

表 6.1 反应时间和温度对丝光纤维素（棉绒）与 MesCl 在吡啶中反应的影响^[265]

反应条件		产 物			
时间/h	温度/℃	S/%	Cl/%	DS _{Mes}	DS _{Cl}
4	28	20.0	1.42	2.00	0.11
17	28	23.0	2.91	2.74	0.29
2	57	12.0	10.73	0.93	0.72
20	57	12.5	12.93	1.00	0.86

在 TEA 存在下，纤维素与 MesCl 在 DMAc/LiCl 中，7℃ 反应 24h，所得产物 DS_{Mes} 1.3（见表 6.2^[266]）进一步对该产物进行甲磺酰化改性，DS_{Mes} 可达 2.1^[267]。均相反应的缺点在于：为了防止试剂添加过程中出现胶凝化，反应须在聚合物浓度低于 1% 的情况下进行；产物须用乙醇/己烷或甲醇/乙酸沉淀，并仔细洗涤；pH 需控制在 7 左右，以避免酯基水解。DS_{Mes} 达 1.3，纤维素甲磺酸酯开始可溶于 DMSO；DS_{Mes} 达 2.1 时，纤维素甲磺酸酯开始可溶于 DMF 和 NMP；更低 DS_{Mes} 的产物只能发生溶胀。

表 6.2 7℃ 下，纤维素与 MesCl 在 DMAc/LiCl 中均相反应的结果^[267]

反应条件				反应产物			
摩尔比			反应时间/h	S/%	Cl/%	DS _{Mes}	DS _{Cl}
AGU	MesCl	TEA					
1	9	18	24	15.8	1.4	1.3	0.10
1	9	18	48	14.4	2.8	1.2	0.20
1	15	30	24	15.5	1.0	1.3	0.06
1	15	30	48	15.3	0.5	1.3	0.04

以 NaOH 为碱，MesCl 在水溶液中反应，制备了右旋糖苷甲磺酸酯，乙醇沉淀，得部分溶于水的右旋糖苷甲磺酸酯^[262]，水溶性部分 DS_{Mes} 0.10，不溶部分 DS_{Mes} 0.68。

交联普鲁兰颗粒与 MesCl 反应产物的结构取决于所用的溶剂。以吡啶为溶剂，MesCl 用量为 3mol/(molRU)，20℃ 反应，产物 DS_{Mes} 可达 0.68，脱氧氯代基可忽略（DS_{Cl} 0.04）；升高反应温度，S_N 成为主导反应，DS_{Mes} 下降，DS_{Cl} 升高。与此相反，以 DMAc 和 DMF 为溶剂，即使在低温下反应，产物也同时含有甲磺酸酯和脱氧氯代基^[268]，如以 DMF 为溶剂，在 20℃ 下反应，所得产物 DS_{Mes} 0.04、DS_{Cl} 0.10。

6.2 苯甲磺酸酯

纤维素的苯甲磺酸酯化反应可在 DMAc/LiCl 中均相进行，控制反应剂与 AGU 的摩尔比，可制备具有设计 DS_{苯甲磺酰基}（DS_{Tos}）的纤维素苯甲磺酸酯。该反应时间短，且几乎无副反应发生^[165,256,271]；但是，产物结构可能同时受反应条件和后处理方法的影响（见图 6.3）。

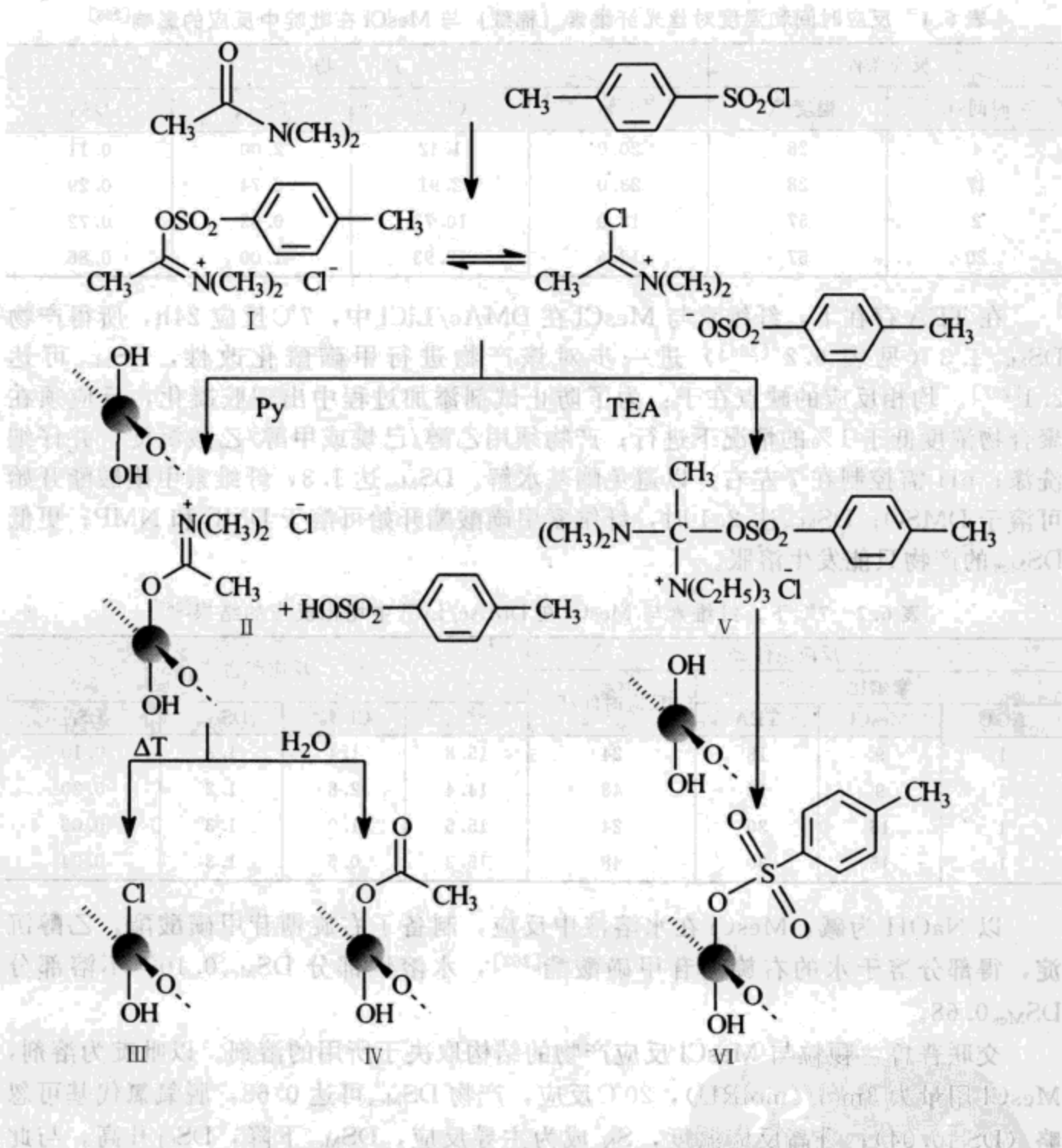


图 6.3 不同有机碱存在下纤维素与 TosCl 在 DMAc/LiCl 中的反应机理^[272]

磺酰氯与 DMAc 发生 Vilsmeier-Haack 反应，生成中间体 *O*-(对甲苯磺酰基)-*N,N*-二甲基乙亚胺盐 (I)，(I) 在不同条件下与羟基发生不同化学反应：采用弱有机碱，如吡啶 (pK_a 5.25) 或 *N,N*-二甲基苯胺 (pK_a 5.15)，(I) 与多糖反应，生成高活性的 *N,N*-二甲基乙胺盐衍生物 (II)，高温下，(II) 可以生成脱氧氯代物 (III)，在水相中进行后处理，(II) 生成乙酰化多糖 (IV)；相反，采用强碱，如 TEA (pK_a 10.65) 或 DMAP (pK_a 9.70)，则生成比 (II) 活性低的 (V)，(V) 与多糖反应生成多糖磺酸酯 (VI)，且无副反应发生。

深入研究发现，DP 280~1020 纤维素均可被转化为相应的磺酸酯^[256]，8~10℃，反应 5~24h，得 DS_{Tos} 0.4~2.3 的产物，氯代反应可忽略 (见图 6.4 和表 6.3)。

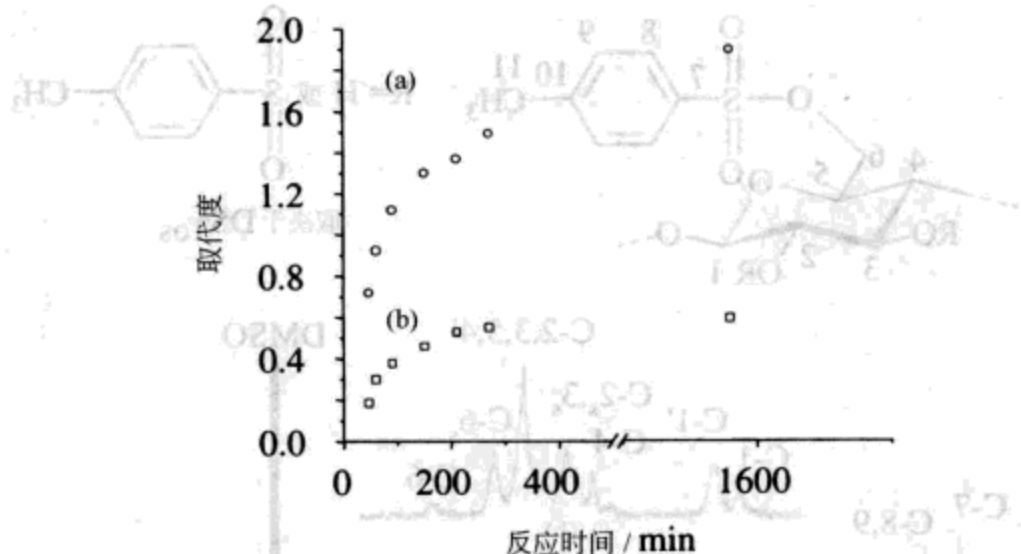


图 6.4 在 TEA 存在下, 反应时间对纤维素在 DMAc/LiCl 中反应的影响
[(a) AGU:TosCl 的摩尔比为 1:6; (b) AGU:TosCl 的摩尔比为 1:1]

表 6.3 纤维素与 TosCl 在 DMAc/LiCl 中的反应

纤维素	反应条件				反应产物		
	DP	摩尔比			DS _{Tos}	S/%	Cl/%
		AGU	TosCl	TEA			
微晶纤维素	280	1.0	1.8	3.6	1.36	11.69	0.47
		1.0	4.5	9.0	2.30	14.20	0.43
云杉硫酸纸浆	650	1.0	1.8	3.6	1.34	11.68	0.44
		1.0	9.0	18.0	1.84	13.25	0.49
棉短绒	850	1.0	0.6	1.2	0.38	5.51	0.35
		1.0	1.2	2.4	0.89	9.50	0.50
		1.0	2.1	4.2	1.74	12.90	0.40
		1.0	3.0	6.0	2.04	13.74	0.50
山毛榉纸浆	1020	1.0	1.8	3.6	1.52	12.25	0.43

注: 反应条件 24h, 8℃ [257]。

纤维素磺酸酯可溶于多种有机溶剂: DS_{Tos} 达 0.4, 可溶于偶极非质子溶剂 (DMAc、DMF 和 DMSO); DS_{Tos} 达 1.4, 开始溶于丙酮和二氧六环; DS_{Tos} 达 1.8, 开始溶于氯仿和二氯甲烷。采用 FTIR 和 NMR 进行结构分析, 结果如图 6.5 所示。

在图 6.5 中, 改性 AGU 的特征峰位于 $\delta 61.0 \sim 103.0$, 苯甲磺酸酯基信号出现在 $\delta 20.5$ (甲基) 和 $\delta 127.0 \sim 145.0$ (芳香碳原子), 由图 6.5 可见, 6 位首先被改性, 因为 $\delta 70$ 出现改性纤维素的 C-6_s 峰, C-1 无分裂信号, 表明低 DS_{Tos} 产物的 2 位没有发生反应。随 DS_{Tos} 增加, C-6 峰逐渐减弱, DS_{Tos} 达 1.89 时, 产物的 C-6 峰几乎完全消失, 并同时出现了另一个 C-1 信号 (C-1'), C-1 信号分裂是因为相邻的 2 位碳发生了部分取代。

在吡啶浆状介质中, 淀粉与 TosCl 发生非均相反应, 产物淀粉苯甲磺酸酯的 DS 值较低。反应中, 采用吡啶水溶液处理及溶剂交换法, 对淀粉进行活化, 淀粉

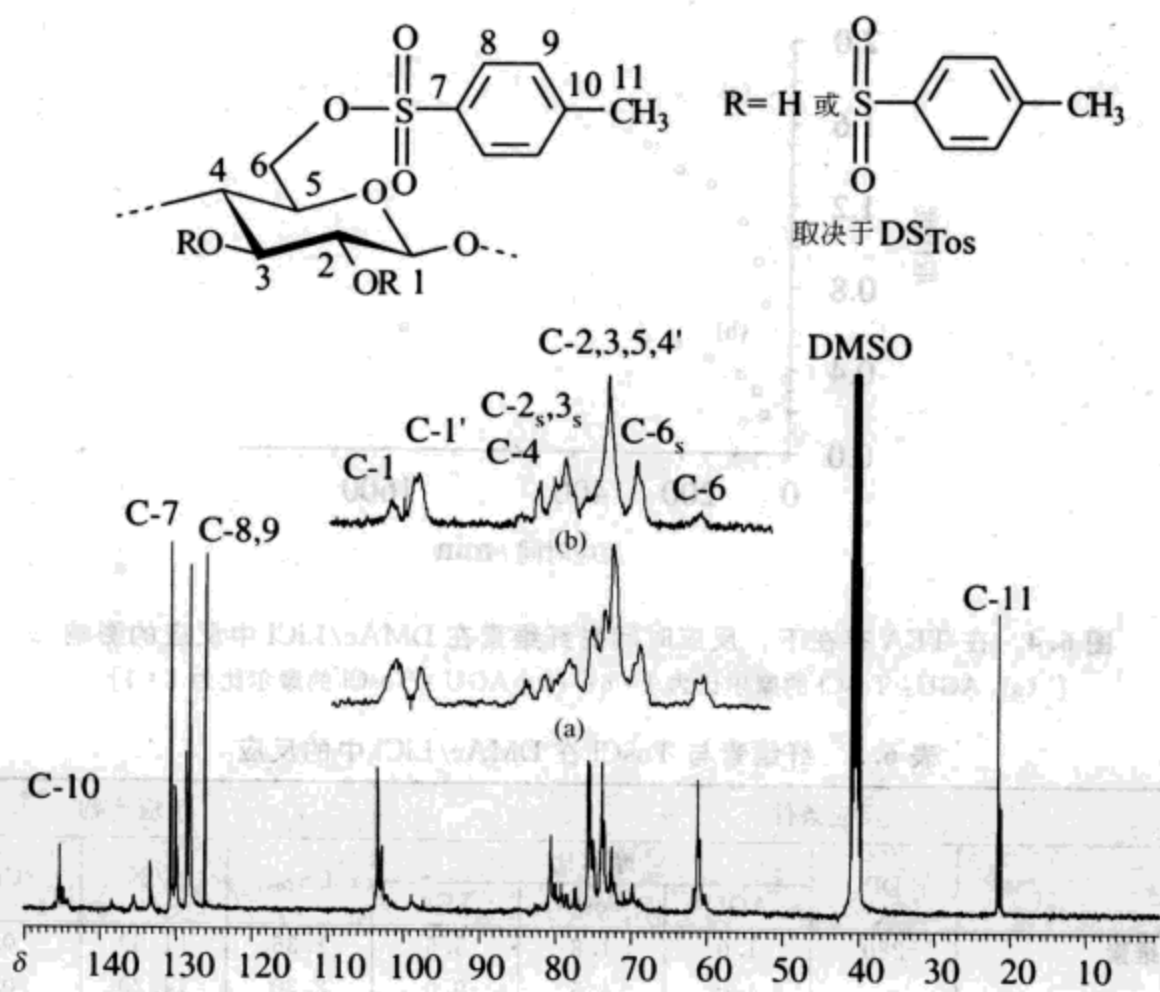


图 6.5 纤维素苯甲磺酸酯 (DS_{Tos} 0.40) 1.12(a) 和 1.89(b) 在 $DMSO-d_6$ 的 ^{13}C NMR 谱图
(' 表示信号受邻位取代的影响, s 表示取代的位置)

羟基的反应活性为： $O-6>O-2>O-3$ ^[258]。以 DMAc/LiCl 为溶剂，在 TEA 存在、8℃ 下反应，可制备纯的淀粉苯甲磺酸酯， DS_{Tos} 0.6~2.0，氯含量低于 0.42%（见表 6.4^[259]）。与纤维素相比，溶解淀粉所需 LiCl 较少，1% LiCl 即可使淀粉溶解。

表 6.4 淀粉（Hylon VII，70%直链淀粉）与 TosCl 在 DMAc/LiCl 中的均相反应（24h^[259]）

反应条件				反应产物		
摩尔比			温度/℃	DS_s	S/%	Cl/%
AGU	TosCl	TEA				
1.0	1.0	2.0	8	0.61	7.61	0.19
1.0	1.5	3.0	8	1.02	10.18	0.20
1.0	2.0	4.0	8	1.35	11.64	0.30
1.0	3.0	6.0	8	1.43	11.93	0.42
1.0	6.0	12.0	8	2.02	13.61	0.32
1.0	1.0	2.0	20	0.61	7.63	0.11
1.0	1.5	3.0	20	0.87	9.40	0.43
1.0	2.0	4.0	20	0.71	8.38	0.45
1.0	3.0	6.0	20	1.27	11.34	1.33
1.0	4.0	8.0	20	1.26	11.30	1.55
1.0	6.0	12.0	20	1.76	12.96	1.48

室温下, 增加磺化剂用量, 产物 DS_{Tos} 下降。由于发生了亲核取代反应, 生成脱氧氯代基, 氯含量明显增加。淀粉苯甲磺酸酯可溶于不同溶剂: DS_{Tos} 达 0.61, 开始溶于偶极非质子溶剂, 如 DMAc、DMF 和 DMSO; DS_{Tos} 达 0.98, 开始溶于非极性溶剂二氧六环; DS_{Tos} 达 1.15, 开始溶于 THF; DS_{Tos} 达 2.02 的聚合物可溶于氯仿。

图 6.6 是淀粉苯甲磺酸酯 (DS_{Tos} 1.09) 的 ^{13}C NMR 谱图, 苯甲磺酰基取代导致信号低场移动约 8.5, 因此, 苯甲磺酰基取代的 C-6_s 峰出现在 $\delta 69.0$; 此外, 由于 2 位羟基发生了改性, 在 $\delta 80.2$ 处有 C-2_s 信号出现; 需要注意的是, $\delta 94.3$ 处有一强峰, 该峰属于 C-1', 表明总 DS_{Tos} 1.09 的淀粉苯甲磺酸酯的 2 位羟基已被完全取代。与非均相反应不同 ($O-6 > O-2/O-3$), 该反应的反应顺序为: $O-2 > O-6/O-3$ 。

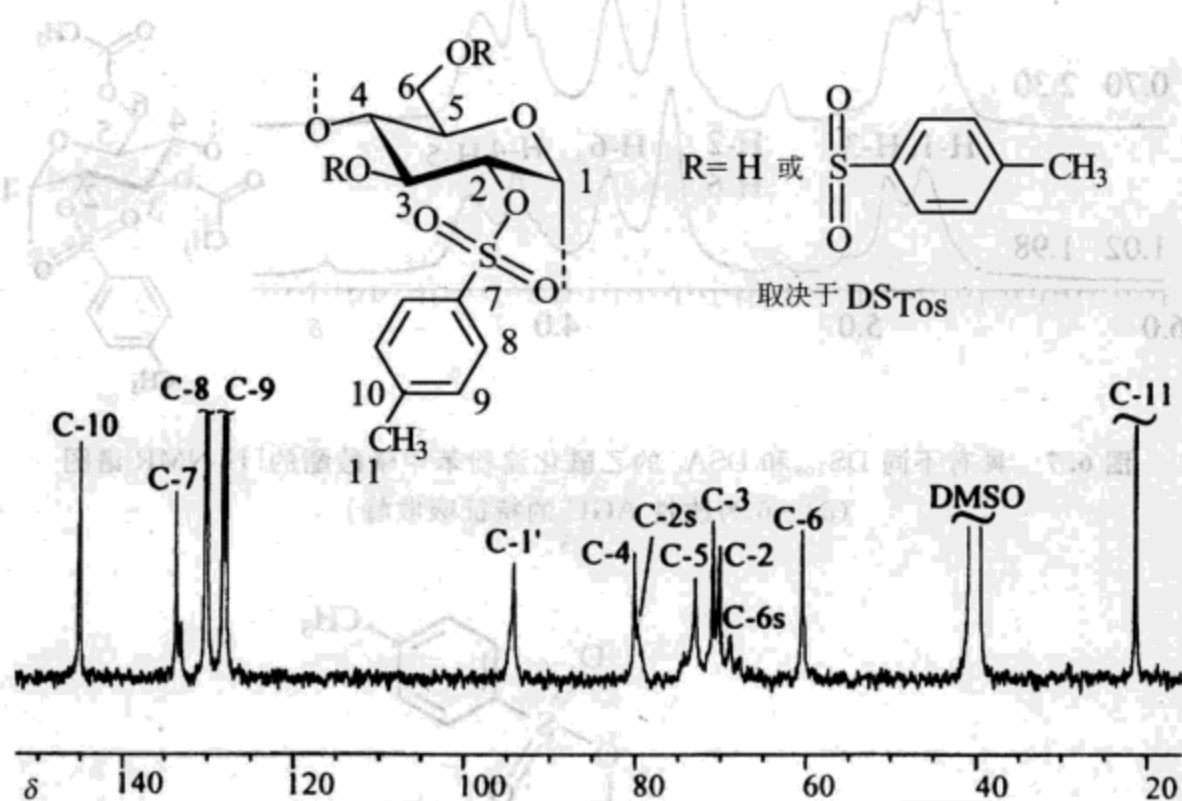


图 6.6 淀粉苯甲磺酸酯 (DS_{Tos} 1.09) 在 $DMSO-d_6$ 中的 ^{13}C NMR 谱图 ($60^\circ C$)

分析淀粉苯甲磺酸酯全磺基化产物的 NMR 谱图, 可以获得淀粉苯甲磺酸酯取代方式的详细信息, 图 6.7 是全乙酰化淀粉苯甲磺酸酯的 1H NMR 谱图, 采用二维 NMR 技术, 可确认 $\delta 4.8$ 的峰属于乙酰化的 2 位氢 ($H-2$)^[273], $H-2$ 峰的强度随 DS_{Tos} 增加而减弱, DS_{Tos} 大于 1.02, 该峰完全消失, 表明苯甲磺酰化反应优先在 2 位羟基进行。苯甲磺酰化改性后, 2 位的 S_N 反应程度很低, 而且, 只有 DS_{Tos} 很高时, 淀粉苯甲磺酸酯的伯羟基才可能发生苯甲磺酰化反应, 所以, 不太容易继续对淀粉苯甲磺酸酯进行亲核取代反应。

磺酰氯可取代甲壳素的两种不同基团 (OH 和 NH_2) (见图 6.8), 取代 OH 生成相应的酯, 取代 NH_2 则生成 N -磺酰胺, 所得产物不易再发生 S_N 反应。甲壳素苯甲磺酸酯可通过均相或非均相反应制备, 甲壳素苯甲磺酸酯易进一步发生反应^[103]。碘代甲壳素和去氧硫甲壳素可作为多种反应的反应物, 如与苯乙烯发生共

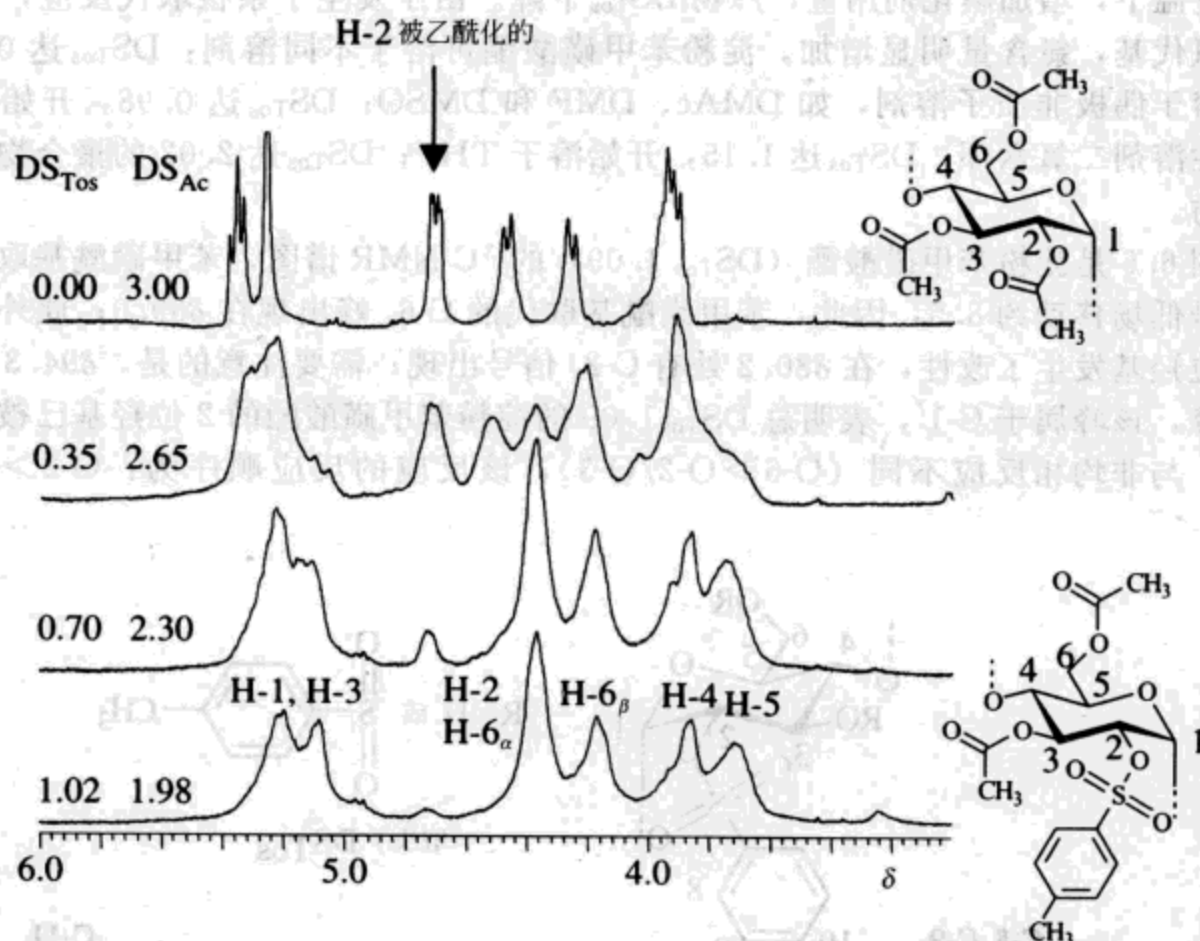


图 6.7 具有不同 DS_{Tos} 和 DS_{Ac} 的乙酰化淀粉苯甲磺酸酯的 1H NMR 谱图
($\delta 3 \sim 6$ 为改性 AGU 的特征吸收峰)

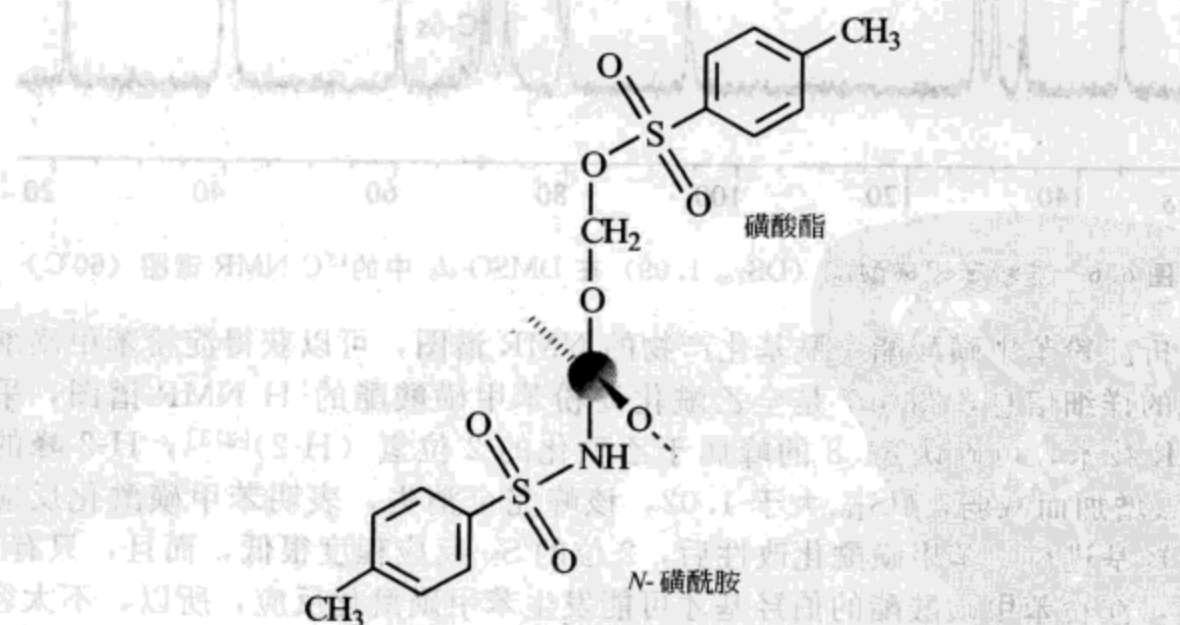


图 6.8 甲壳素 2-脱氧-2-氨基重复单元的磷酸衍生物的结构

聚反应 [274,275]。为了抑制 N -苯甲磺酰化反应,可采用吡啶为反应介质,以及使用大量过量的 $TosCl$ [$10\text{mol}/(\text{mol 糖原})$],产物呈白色纤维状, DS_{Tos} 0.83 (见表 6.5)。

表 6.5 在 DMAP 参与下, 由 *N*-乙酰甲壳素 (0.2g) 在 Py 中非均相反应制备甲壳素苯甲磺酸酯^[103]

甲壳素		反应条件		甲壳素苯甲磺酸酯
来源	晶型	DMAP/g	时间/h	DS
鱿鱼	β	0	24	0.34
鱿鱼	β	0	48	0.69
鱿鱼	β	0.2	24	0.62
鱿鱼	β	0.2	48	0.70
鱿鱼	β	1.0	48	0.80
鱿鱼	β	2.0	48	0.83
虾	α	0.2	48	0.18

DMAP 可促进甲壳素的苯甲磺酰化反应, 且反应条件温和、无 *N*-脱乙酰化反应发生。与鱿鱼鞘 β -甲壳素相比, 虾 α -甲壳素的反应活性更低。

在均相反应条件下, 以 42% NaOH 预处理甲壳素 (DDA0.18), 得碱性甲壳素^[260], 加入碎冰块后得到溶液, 将该溶液与 TosCl 的氯仿溶液在 0℃ 剧烈搅拌 2h, 再在 20℃ 下搅拌 2h, 得两相混合物, 经后处理, 得 DS_{Tos} 1.01 的甲壳素苯甲磺酸酯 (见表 6.6)。在强碱性条件下, OH 的反应活性明显高于 NH₂, 因此, 可忽

表 6.6 由碱性甲壳素均相制备甲壳素 *O*-苯甲磺酸酯^[260]

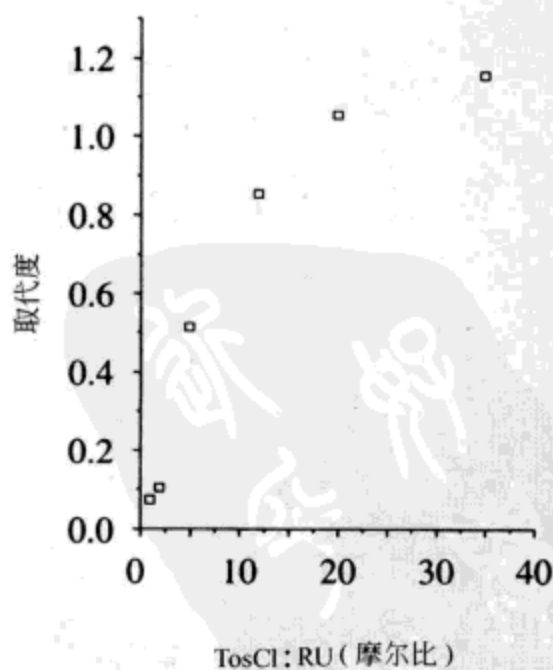
摩尔比		甲壳素 <i>O</i> -苯甲磺酸酯	
重复单元	TosCl	DS _{Tos}	溶解性
1	7	0.42	DMSO, DMAc, NMP, HCOOH
1	10	0.73	DMSO, DMAc, NMP, HPMA, HCOOH
1	15	0.95	n. d.
1	20	1.01	n. d.

略 *N*-苯甲磺酰化反应, 但是, 乙酰氨基可能同时发生水解, 并在苯甲磺酰化反应过程中发生乙酰基迁移。

将壳聚糖溶于含 5%~8% LiCl 的 DMAc, 可在温和的反应条件下进行苯甲磺酰化反应^[261], 当反应剂与糖原比为 35:1 (mol/mol) 时, DS_{Tos} 可达 1.1 (见图 6.9^[276])。由上可见, 在溶解状态, 甲壳素的反应活性比纤维素低。

从理论而言, 采用上述方法也可对其他多糖, 如右旋糖苷、小核菌葡聚糖、木聚糖和瓜尔胶, 进行苯甲磺酰化改性。如果多糖苯甲磺酸酯含伯羟基, 则很容易对该酯进行后续改性, 如 S_N 反应; 对于主链上不含伯羟基的多糖, S_N 反应受到一定限制。亲核试剂的反应活性也存在差异, 叠氮离子比碘离子亲核性更强, 可以取代仲羟基上的磺酸酯基。

此外, α -(1→6) 连接的多糖, 如右旋糖苷, 可能含有与主链结构不同的支链, 支链端基上存在伯羟基。

图 6.9 TosCl 与 RU 摩尔比对甲壳素苯甲磺酸酯 DS_{Tos} 的影响^[276]

在苯甲磺酰化反应中，也存在副反应，如通过消除反应生成C=C双键。尽管 Rogovin 等人^[277]对右旋糖苷的苯甲磺酰化反应及后续的 S_N 反应进行了报道，但作者认为，这些反应结果还需采用现代光谱技术进一步验证，表 6.7 列举了几个文献例子。

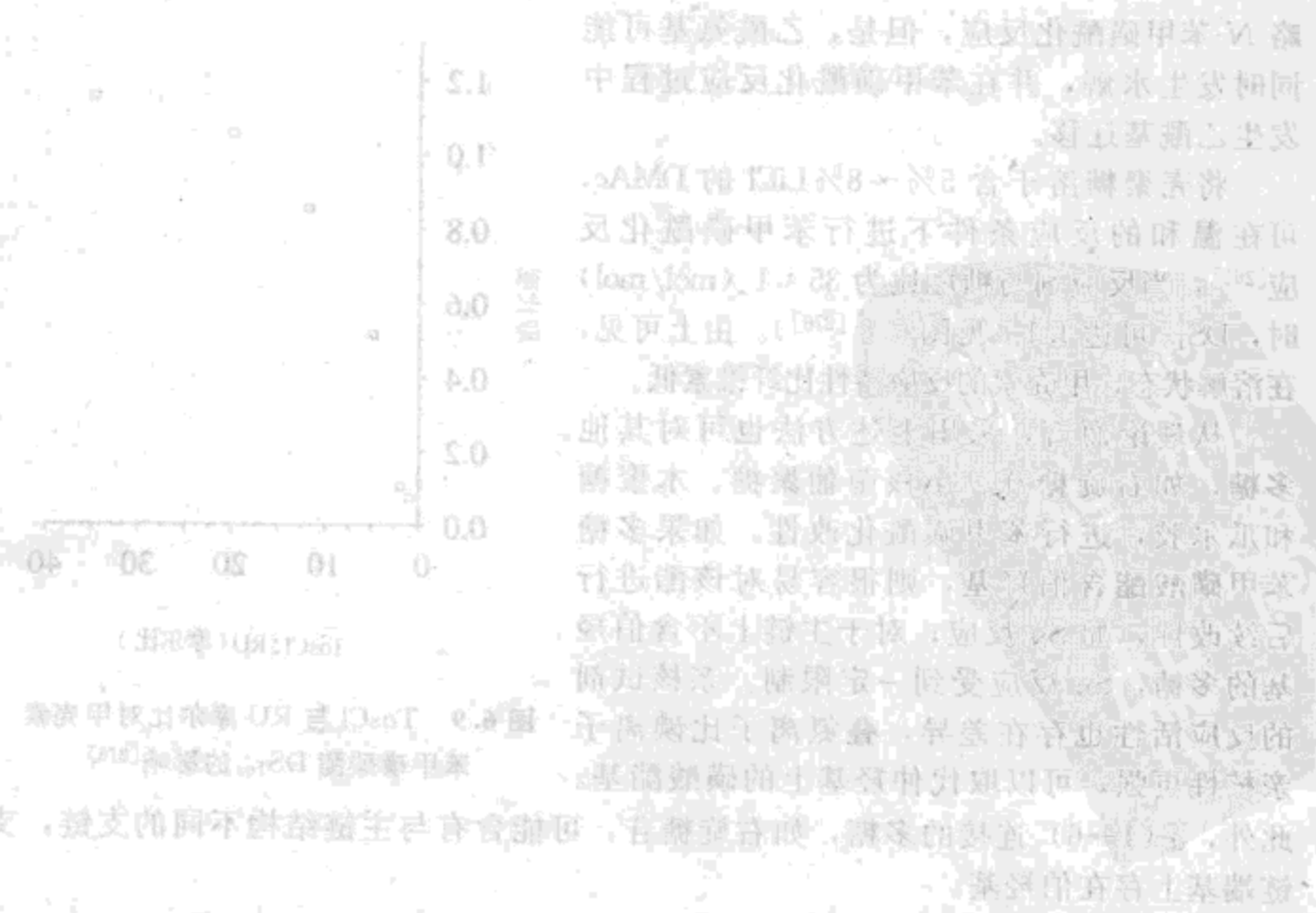
表 6.7 几种多糖苯甲磺酸酯的应用

多糖衍生物	应 用	参考文献
右旋糖苷苯甲磺酸酯	制备脱氧碘右旋糖苷和脱氧氨基右旋糖苷	[278]
右旋糖苷苯甲磺酸酯	与硫氰酸钾进行 S _N 反应	[279]
半纤维素苯甲磺酸酯	与 NaSCN 进行 S _N 反应	[280]
小核菌葡聚糖苯甲磺酸酯	引入重原子进行 X 射线荧光光谱分析	[281,282]

6.3 其他磺酸酯

也有报道采用其他芳香磺酰氯或脂肪磺酰氯进行多糖改性，文献 [278] 对纤维素苯甲磺酸酯与醋酸锂的 S_N 反应进行了研究，并提出了反应机理。

多糖含氟脂肪磺酸酯的反应活性非常高，需小心操作。三氟甲磺酸酐与甲基纤维素和纤维素乙酸酯反应，获得交联凝胶^[269]。2,2,2-三氟甲磺酰氯改性可提高纤维素乙酸酯膜对酶的固载亲和性^[270]。以纤维素 2,2,2-三氟甲磺酸酯为原料，制备了可用作载体基质材料的具有发色性能的脱氧氨基纤维素^[283]。带芳氨基的纤维素磺酸酯可能存在有用的光学性能（如荧光性）^[263]。



7 多糖无机酸酯

多糖能与已知的任何无机酸发生酯化反应，常见的多糖无机酸酯如图 7.1 所示。多糖硝酸酯、磷酸酯、二硫代碳酸酯和硫酸酯都具有非常重要的应用价值，纤维素硝酸酯已有商业产品，用作油漆涂层材料和含能材料等；但是，纤维素和其他多糖的无机酸酯还有待进一步商业化开发。阴离子基，如硫酸半酯基，广泛存在于天然多糖中，肝素和软骨素就是其中最典型的含硫酸酯基多糖^[284]。

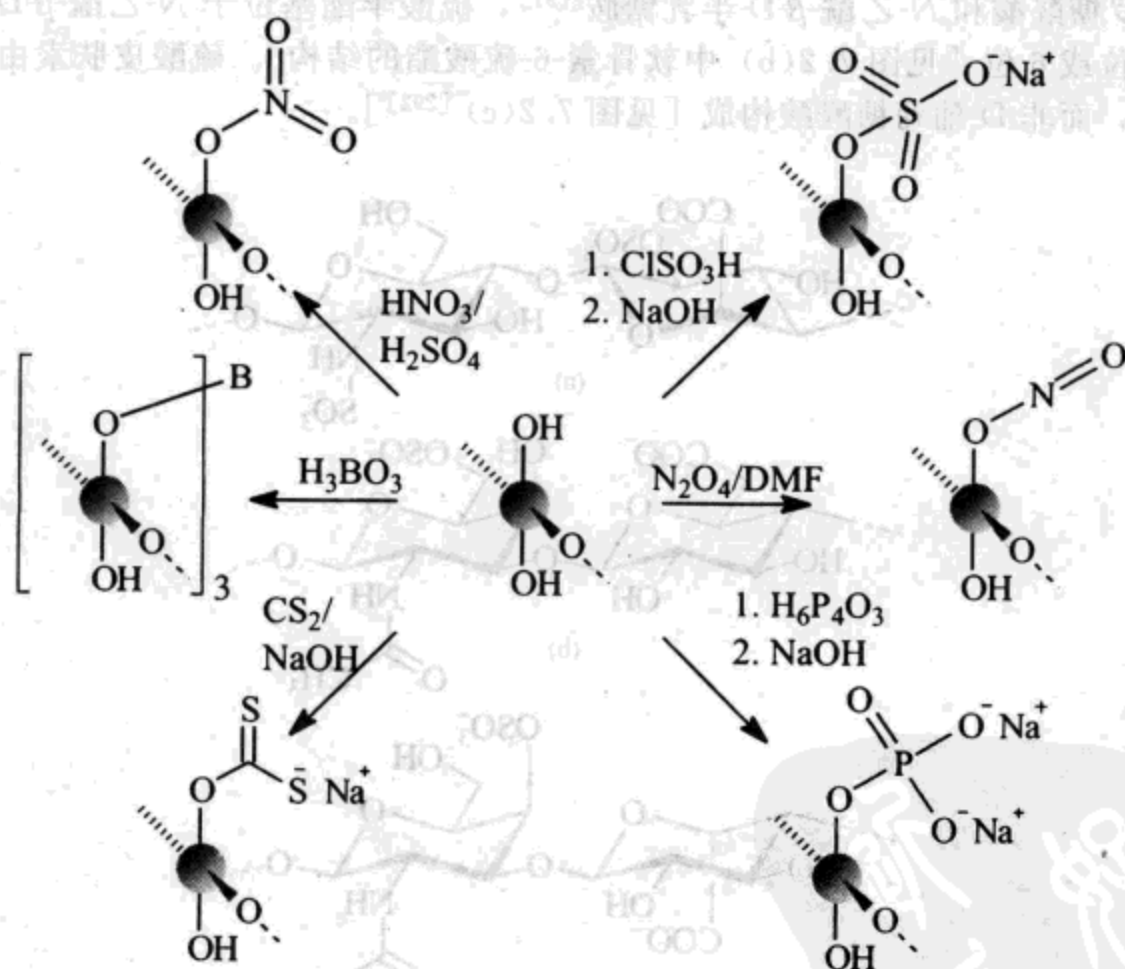


图 7.1 常见的多糖无机酸酯

通过改变条件 (pH 值、反应介质、含盐量)，可以使多糖酯的某些官能团发生断裂，从而对这些酯进行成型加工。人造纤维素二硫代碳酸酯 (黄原酸酯) 是多糖酯产品中最重要的一种，全球年产量 $3 \times 10^6 \text{ t}$ 。以 CS_2/NaOH 改性纤维素，可获得纤维素黄原酸酯，在黄原酸化过程中，生成的纤维素黄原酸酯会溶解于剩余的 NaOH 水溶液。文献 [285] 对黏胶法作了详细介绍。在极性非质子溶剂中，多糖在溶解状态下与 N_2O_4 反应，制得亚硝酸酯；采用质子溶剂处理，可将该酯再生^[286,287]。

7.1 硫酸半酯

含硫酸半酯基的多糖构成了生物体内一类非常复杂的化合物, 这些化合物具有不同的生理功能, 如抗凝血或构成结缔组织^[288]。硫酸多糖通常是由不同糖原组成, 包括含脱氧氨基和羧基的糖原, 如 β -D-古罗糖醛酸或 α -L-艾杜糖醛酸, 以及 N-乙酰- β -D-半乳糖胺^[289]。

类肝素硫酸酯由 α -L-艾杜糖醛酸和 N-乙酰- β -D-半乳糖胺构成 [见图 7.2 (a)^[290]]。肝磷脂与类肝素硫酸酯结构相似, 但肝磷脂的硫酸酯基比 L-艾杜糖醛酸含量更高, 硫酸酯基与 L-艾杜糖醛酸的 3 位和 D-半乳糖胺的 6 位连接, 氨基被乙酰基或者被硫酸酯基取代。肝磷脂是一种重要的治疗用抗凝血剂和抗血栓剂。

软骨素是软骨和结缔组织的重要成分, 软骨素的糖原主要为 β -(1 $\rightarrow$ 3) 连接的 β -D-古罗糖醛酸和 N-乙酰- β -D-半乳糖胺^[291], 硫酸半酯基位于 N-乙酰- β -D-半乳糖胺的 4 位或 6 位 [见图 7.2(b) 中软骨素-6-硫酸酯的结构]。硫酸皮肤素由 L-艾杜糖醛酸, 而非 D-葡萄糖醛酸构成 [见图 7.2(c)^[292]]。

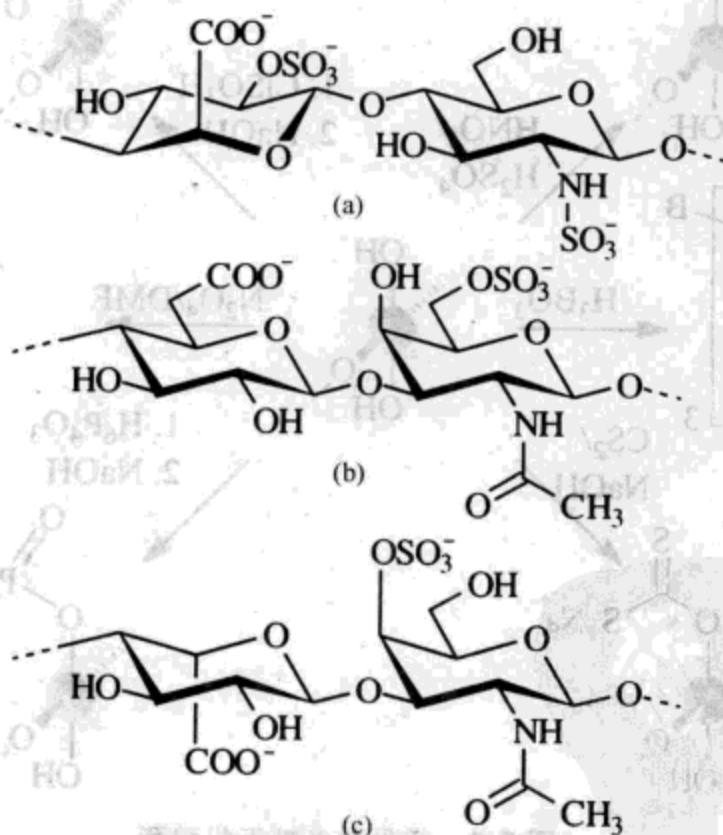


图 7.2 类肝素硫酸酯 (a)、软骨素-6-硫酸酯 (b) 和硫酸皮肤素 (c) 的重复单元

向多糖引入硫酸半酯基, 一方面可以增加多糖的水溶性, 另一方面可增强多糖的生物活性, 例如, 水溶性不好的凝胶多糖, 在接入极少量硫酸半酯基后 [约 4.4% (摩尔分数), DS 0.04 硫酸半酯基^[293]], 可得清澈的水溶液。由此可见, 对多糖硫酸酯化改性是进行多糖结构性能设计的一种重要手段。

目前已经开发了许多均相和非均相的合成方法, 用于人工合成硫酸酯化多糖。酸式的硫酸半酯具有强酸性, 会引起硫酸酯基的自催化水解以及链降解, 因此, 多糖硫酸半

酯常被转化为盐式，其中以钠盐居多，钠盐可溶于水，且在水溶液中稳定。

采用不同的试剂，如 ClSO_3H 、 SO_3 、 H_2SO_4 ，可对多糖进行硫酸酯化改性。以浓硫酸或稍微稀释的硫酸处理多糖，可进行硫酸酯化反应，但在这种条件下，多糖存在明显降解。硫酸也可与小分子醇共同使用，生成烷基硫酸酯，再以烷基硫酸酯作为活性反应物进行酯化反应，在该反应中，多糖降解程度相对较低。 ClSO_3H 和 SO_3 是很强的硫酸酯化试剂，这两种试剂的缺点在于它们对湿度都很敏感。采用 ClSO_3H 和 SO_3 与有机碱（如 TEA、吡啶）或非质子两性溶剂（如 DMF）的复合物，可避免这个问题，这些复合试剂均有商业产品。 SO_3 -DMF、 SO_3 -吡啶为白色固体，这些试剂反应效率高、操作使用方便，可用于制备具有设计结构的多糖硫酸半酯。产物多糖硫酸半酯可能呈现一定的生物活性，在癌症治疗和抗 HIV 药物方面，凝胶多糖及其硫酸半酯备受关注。

DMF 可溶解或至少可以溶胀大部分多糖。DMF 是多糖硫酸酯化反应的典型反应介质，如作为直链淀粉和支链淀粉改性的反应溶剂。在 DMF 中，瓜尔胶具有与淀粉相似的反应效率，结果如图 7.3 所示^[294]。

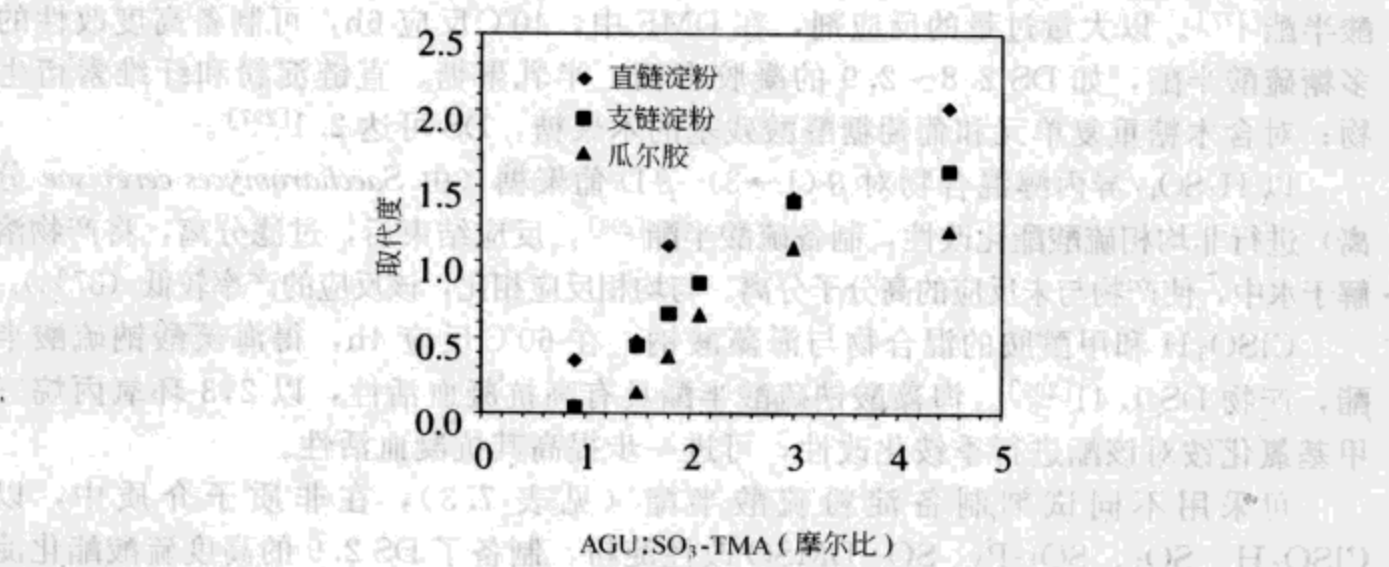


图 7.3 多糖与 SO_3 -TMA 在 DMF 中的硫酸酯化反应^[294] (24h, 0℃)

凝胶多糖硫酸半酯的常用合成方法：首先将多糖溶解于非质子两性溶剂，再以 SO_3 -吡啶进行硫酸酯化改性，最后将产物中和为钠盐。溶胀在甲酰胺中的凝胶多糖与 SO_3 -吡啶，在室温反应 24h，DS 可达 2.10（见表 7.1^[295]）。

表 7.1 凝胶多糖与 SO_3 -吡啶在甲酰胺中的硫酸酯化反应

摩尔比		产 物				
AGU	$\text{SO}_3\text{-Py}$	S/%	DS	部分 DS		
				O-6	O-4	O-2
1	2.0	10.4	0.93	n. d.	n. d.	n. d.
1	2.5	13.6	1.45	1.00	0.14	0.31
1	3.0	14.6	1.75	1.00	0.31	0.44
1	4.0	15.6	1.98	1.00	0.50	0.48
1	5.0	16.1	2.10	n. d.	n. d.	n. d.

注：反应条件 24h，RT^[295]。

在 DMSO 中，以哌啶-N-磺酸改性凝胶多糖，可得 DS 1.6 的凝胶多糖硫酸半

酯；在吡啶浆状介质中，以 SO_3 -吡啶硫酸对多糖进行改性，产物 DS 2.6；在吡啶中，以 ClSO_3H 改性凝胶多糖，可得几乎完全改性的产物，后两种产物具有负的旋光率，由此可认为，产物保留了凝胶多糖的螺旋结构。根据 ^{13}C NMR 结果，吡啶- N -磺酸对 O-6 具有很高的选择性，但是，由 SO_3 -吡啶和 ClSO_3H 制备的产物仍存在未反应的 6-OH（见表 7.2 [296]）。

表 7.2 不同硫酸化试剂对凝胶多糖的硫酸酯化反应

硫酸化试剂	反应条件			凝胶多糖硫酸半酯	
	摩尔比		温度/℃	DS	$[\alpha]_{\text{D}}^{25}/(^{\circ})$
	AGU	试剂			
吡啶- N -磺酸	1	4.0	85	1.60	-1.5
SO_3 -吡啶复合物	1	15.2	85	2.40	-14.9
ClSO_3H	1	6.3	100	2.60	-16.0
ClSO_3H	1	12.6	100	2.90	-22.0

注：反应条件 60min，85℃。

将凝胶多糖溶解于 DMSO/LiCl，以 SO_3 -Py 在 80℃ 反应 4h，得 DS 1.7 的硫酸半酯[177]。以大量过量的反应剂，在 DMF 中，40℃ 反应 6h，可制备高度改性的多糖硫酸半酯，如 DS 2.8~2.9 的凝胶多糖、半乳聚糖、直链淀粉和纤维素衍生物；对含木糖重复单元和葡萄糖醛酸残基的木聚糖，DS 可达 2.1[297]。

以 H_2SO_4 /异丙醇混合物对 β -(1→3)- β -D-葡聚糖（由 *Saccharomyces cerevisiae* 分离）进行非均相硫酸酯化改性，制备硫酸半酯[298]，反应结束后，过滤分离，将产物溶解于水中，使产物与未反应的高分子分离。与均相反应相比，该反应的产率较低（37%）。

ClSO_3H 和甲酰胺的混合物与海藻酸钠，在 60℃ 反应 4h，得海藻酸钠硫酸半酯，产物 DS 1.41[299]。海藻酸钠硫酸半酯具有高抗凝血活性，以 2,3-环氧丙烷三甲基氯化铵对该酯进行季铵化改性，可进一步提高其抗凝血活性。

可采用不同试剂制备淀粉硫酸半酯（见表 7.3），在非质子介质中，以 ClSO_3H 、 SO_3 、 SO_3 -Py、 SO_3 -DMSO 改性淀粉，制备了 DS 2.9 的高度硫酸酯化淀粉。有意义的是，采用 ClSO_3H 或 SO_3 的衍生试剂，在水中也可对多糖进行硫酸酯化改性。对淀粉进行低度硫酸酯化改性，可以改善其溶解性。

表 7.3 可对淀粉改性的硫酸酯化试剂

反应剂	介质	DS	参考文献
H_2SO_4	乙醚	0.25	[300]
ClSO_3H	甲酰胺	<1.8	[301~304]
SO_3 /甲酰胺			
NaNO_2 /亚硫酸氢钠	Dry	<0.02	[305]
Urea/氨基磺酸	Dry	<0.04	[306]
SO_3 /叔胺	H_2O /有机溶剂		[307,308]
SO_3 /Py	DMF	2.9	[297]
SO_3 /DMSO	DMSO	2.4	[309]
SO_3 /DMF	DMF	1.6	[310,311]
SO_3 /TMA	H_2O	<0.1	[312]
N -甲基咪唑- N' -磺酸酯	H_2O	<0.01	[313]

目前已开发了许多制备纤维素硫酸半酯的方法：将纤维素简单溶解在 70%~75% H_2SO_4 中，可得硫酸酯化产物，但聚合物降解明显； H_2SO_4 与小分子醇（如 *n*-丙醇）的混合物，与纤维素非均相反应，可得 $\text{DS} \approx 0.4$ 的纤维素硫酸半酯，中间体丙基硫酸半酯为硫酸酯化试剂， H_2SO_4 /*n*-丙醇很容易被回收再利用^[314]。

许多硫酸酯化试剂具有高反应活性，这导致取代基在高分子链上分布不均匀，因此，产物即使具有高 DS 值，也难溶解于水。对溶液状态的纤维素进行硫酸酯化改性，所得产物取代基分布均匀。但是，DMAc/LiCl 不是好的硫酸酯化反应溶剂，所得产物 DS 低，且不可溶^[315]。

尽管 N_2O_4 /DMF 是一种有毒的纤维素溶剂，但对制备纤维素硫酸半酯却非常有用，中间体亚硝酸酯被不同反应剂（ ClSO_3H 、 SO_3 、 SO_2Cl_2 、 $\text{H}_2\text{NSO}_3\text{H}$ ）进攻，发生酯交换反应，生成硫酸半酯，脱除残余的亚硝酸酯后，可得 $\text{DS} 0.3 \sim 1.6$ 的产物^[193,316]；改变反应条件，可以控制酯交换反应的选择性（见表 7.4）。与直接硫酸酯化反应不同，反应中聚合物降解程度很低，产物溶液黏度很高。在质子条件下进行后处理，可脱除残留的亚硝酸酯。

表 7.4 纤维素亚硝酸酯与不同试剂 [2mol/(molAGU)] 的硫酸酯化反应

反应条件			反应产物			
试剂	时间/h	温度/℃	DS	部分 DS		
				O-2	O-3	O-6
NOSO_3H	4	20	0.35	0.04	0	0.31
$\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$	3	20	0.40	0.10	0	0.30
SO_2Cl_2	2	20	1.00	0.30	0	0.70
SO_3	3	20	0.92	0.26	0	0.66
SO_3	1.5	-20	0.55	0.45	0	0.10

注：DS 值由 NMR 法测定^[192]。

为了取代有毒的 N_2O_4 /DMF，可采用带活性取代基的纤维素衍生物为起始反应物，纤维素三甲基硅烷为其中最典型的例子。纤维素三甲基硅烷可溶于许多溶剂，如 DMF 和 THF，并与 $\text{SO}_3\text{-Py}$ 或 $\text{SO}_3\text{-DMF}$ 发生反应^[317]。纤维素三甲基硅烷的制备很简单：纤维素与三甲基氯化硅在 DMF/ NH_3 中非均相反应（ $\text{DS} < 1.5$ ），或与六甲基二硅烷在 DMAc/LiCl 中均相反应；采用后一种方法，制备了 $\text{DS} 2.9$ 的纤维素三甲基硅烷。

在纤维素硫酸酯化反应过程中，三甲基硅基为离去基团，首先， SO_3 插入硅醚的 Si—O 键（见图 7.4），所得中间体不稳定，通常不需要分离，继续以 NaOH 水溶液处理，即可断裂 TMS 基团，生成硫酸半酯化纤维素钠。

由上述反应流程可知， DS_s 受纤维素三甲基硅烷 DS_{Si} 的限制， DS_s 在 0.2~2.5 范围内可调，表 7.5 列出了几个有代表性的反应。硫酸酯化反应速度快，约需 3h，降解反应可忽略，因此，如果采用高 DP 的纤维素三甲基硅烷为原料，可获得高分子量的纤维素硫酸酯，例如， $\text{DS} 0.60$ 的纤维素硫酸半酯的增比黏度为 4900（1% 水溶液^[317]）。

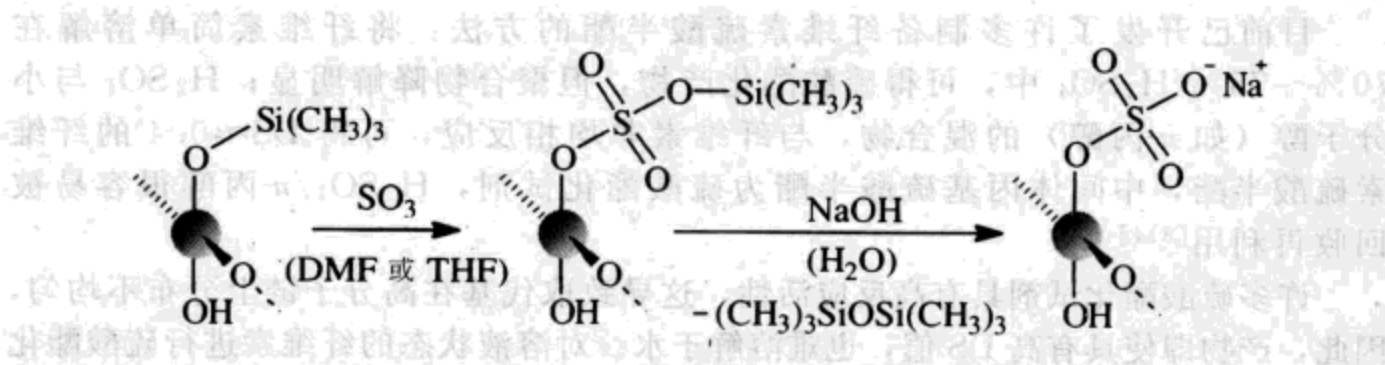


图 7.4 由三甲基硅基纤维素制备纤维素硫酸酯

表 7.5 通过三甲基硅基纤维素对纤维素进行硫酸酯化改性^[317]

反应条件					产 物
TMS 纤维素	溶剂	硫酸酯化试剂			DS
DS _{Si}		种类	摩尔比		
			AGU	试剂	
1.55	DMF	SO ₃	1	1.0	0.70
1.55	DMF	SO ₃	1	2.0	1.30
1.55	DMF	SO ₃	1	6.0	1.55
1.55	DMF	ClSO ₃ H	1	1.0	0.60
1.55	DMF	ClSO ₃ H	1	2.0	1.00
1.55	DMF	ClSO ₃ H	1	3.0	1.55
2.40	THF	SO ₃	1	1.0	0.71
2.40	THF	SO ₃	1	1.7	0.90
2.40	THF	SO ₃	1	3.3	1.84
2.40	THF	SO ₃	1	9.0	2.40

硫酸酯化反应也可以“一锅反应”进行，即不分离和再溶解纤维素三甲基硅烷^[317]，在 DMF/NH₃ 中对纤维素进行硅烷化改性后，减压脱除过量的 NH₃，分离生成的 NH₄Cl，再加入溶于 DMF 的硫酸酯化试剂，如 ClSO₃H 或 SO₃，反应后分离，即得纤维素硫酸化半酯。

低 DS 的纤维素硫酸半酯被用于制备聚电解质胶囊。对于纤维素，如果取代基在 高分子链上均匀分布，DS 0.2 的硫酸半酯已能完全溶解于水；在 DMF 溶液中，对 DS 2.5 的商业纤维素乙酸酯进行硫酸酯化，可很容易制备上述产物^[186]。乙酰基起到保护基团的作用，SO₃-Py、SO₃-DMF 或乙酰化硫酸选择性地与未改性的羟

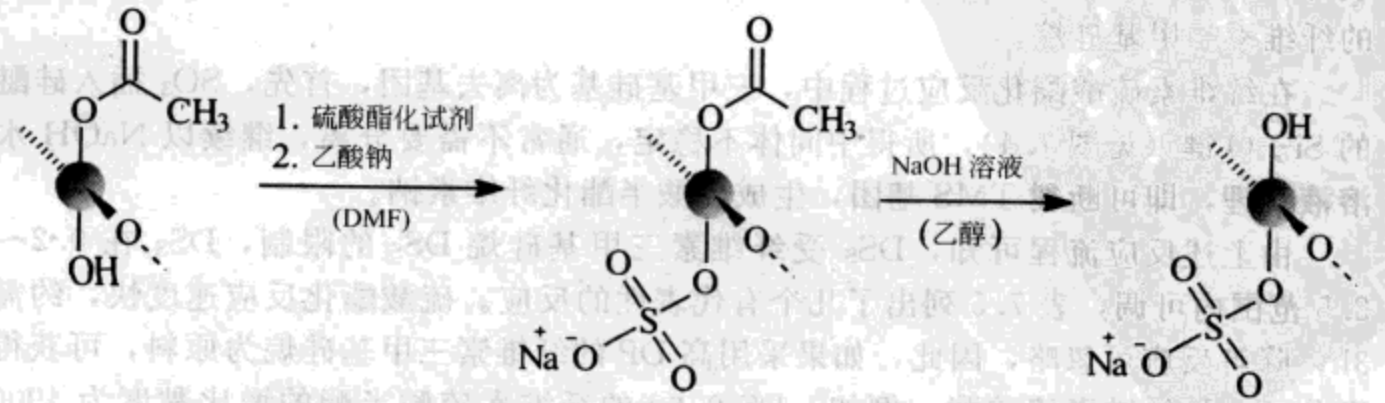


图 7.5 由纤维素乙酸酯制备纤维素硫酸半酯（乙酰基为保护基）

基进行硫酸酯化反应 (见图 7.5), 反应中无酯交换反应发生。以乙酸钠中和纤维素硫酸半酯乙酸酯, 再在乙醇浆状介质中, 以 NaOH 处理脱除乙酰基, 为了抑制聚合物降解, 皂化反应在室温、惰性气氛中进行, 反应 16h。

7.2 磷酸酯

在多糖生物合成过程中, 向糖原引入磷酸酯基是一个非常重要的活化步骤, 形成糖苷键时磷酸酯基断裂, 因此, 最终多糖中仅含极少量的磷。在淀粉中, 约有 0.1% P 以磷酸单酯形式存在^[318], 淀粉骨架所连磷酸酯基的含量取决于淀粉来源, 磷酸酯基对淀粉流变性有很大影响^[319]。淀粉磷酸酯化反应在新陈代谢过程中扮演着重要角色, 文献 [320] 对此进行了综述。

磷酸具有三个官能团, 可使多糖发生交联, 导致所得产物不溶且结构不确定。对多糖进行磷酸酯化改性, 一般是为了降低多糖的溶解性或增强生物活性。磷酸酯化改性可增加纺织材料的阻燃性。纤维素磷酸酯可用作弱阴离子交换剂, 这就要求该酯在水中不溶。

淀粉磷酸酯广泛用作食品添加剂, 为了控制其流变性, 需对淀粉磷酸酯进行深入研究。淀粉磷酸酯也用作造纸湿端添加剂和纺织添加剂, 其中一般采用低 DS (通常含约 0.4% PO_4 基团) 的产物。含 12% 磷酸酯基的产品可用于农业和医药。

可采用不同试剂, 如多聚磷酸、 POCl_3 、 P_2O_5 和磷酸盐, 对多糖进行磷酸酯化改性, 产物酯的酸式结构通常被转化为碱盐。另外, 表 7.6 中的磷酸化试剂, 尤其是有机磷化合物, 可在水溶液中非均相制备低 DS 的磷酸单酯。

三聚磷酸钠和焦磷酸盐 ($\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$) 与淀粉反应, 生成磷酸酯 (DS 0.02)^[321~323], 反应温度一般为 100~120℃。正磷酸盐 (如 $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) 参与的反应须在更高温度下 (140~160℃) 进行, 产物 DS 有所提高, 可达 0.2^[328,329]。

除了将淀粉与无机磷酸简单混合和后续“焙烧”, 还可以将淀粉浸渍在磷酸化试剂的水溶液中, 将淀粉从溶液中分离, 在 140~160℃ 热处理^[330], 得淀粉磷酸酯, 产物中仍残存部分磷酸化试剂。用 $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ [2.5mol/(molAGU)] 在水中, 35℃ 处理淀粉 2h (pH 6), 过滤、干燥、150℃ 热处理 3h, 可得 DS 0.14 的淀粉磷酸酯^[331]。通常, 在浆状介质中制备淀粉磷酸酯, 比干混合和加热效果更好^[332]。磷酸酯基的引入可使含改性淀粉的混合物的凝胶化温度降低、冷冻-解冻稳定性增强。浸渍淀粉的“焙烧”一般在旋转筒、流化床或挤压机中进行, 可以 2450MHz 超高频辐照提供能量 (详细内容见文献 [333,334])。

多糖单磷酸酯易发生交联, 因此, 控制磷酸酯化改性体系的 pH 值很重要, pH 5.0~6.5 对正磷酸盐反应最佳, 三聚磷酸钠在 pH 5.0~8.5 均可发生反应^[335], 在更高 pH 条件下, 生成二酯的交联反应占主导^[336]。

由于协同效应, 无机磷酸和尿素可同时与淀粉反应, 得到高黏度、无色的改性淀粉^[337], 需要注意的是, 产物含一定量的氮。经典的合成过程采用 5% NaH_2PO_4 和 10%~15% 尿素处理淀粉, 产物含 0.2%~0.4% N 和 0.1%~

渍在磷酸盐水溶液中,干燥、120℃热处理,可得含0.99% P的产物^[345]。该过程与淀粉的磷酸酯化反应类似。

瓜尔胶在 NaH_2PO_4 水溶液中,60~66℃,浸渍30min (pH 6),干燥、150~160℃热处理,制备了瓜尔胶磷酸酯(没有提供DS值);该酯可溶于水,2%溶液的黏度为400~500cP (1cP= $10^{-3}\text{Pa}\cdot\text{s}$),该酯呈现聚电解质特性,可与 Al^{3+} 交联^[346]。多糖磷酸酯也具有生物活性。多聚磷酸与右旋糖苷在甲酰胺中反应48h,所得产物含P 1.7%,该酯可增强机体免疫活性,并使鼠脾细胞有丝分裂增强,且活性不受多糖分子量影响^[347]。

甲壳素与 P_2O_5 在甲烷磺酸中反应,得甲壳素磷酸酯^[348],采用4mol P_2O_5 /(molRU),甲壳素几乎完全被改性。甲壳素磷酸酯可溶于水,且与DS大小无关;相反,高DS的壳聚糖(脱乙酰甲壳素)磷酸酯不溶于水,原因在于该酯具有两亲性。在甲烷磺酸中,己二酰氯可使甲壳素发生交联,所得不溶性甲壳素磷酸酯可用于吸附金属离子^[349]。 P_2O_5 在甲烷磺酸中的磷酸酯化反应也适用于木聚糖(22%~45%磷酸酯),值得一提的是,产物的抗凝血活性随分子量增加而增加,却随磷酸酯含量增加而降低^[350]。

研究了不同磷酸试剂对纤维素改性的反应,无水 H_3PO_4 可以单独使用,也可与 P_2O_5 配合使用^[351]。120℃,纤维素与熔融 H_3PO_4 和尿素反应,所得产物DS 0.3~0.6, N含量0.1%~0.2%,产物持水性良好^[352]。在150℃,对纤维素/尿素/ H_3PO_4 混合物进行热处理,也可实现纤维素的磷酸酯改性^[353]。以 H_3PO_4 、 P_2O_5 和 $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})\text{PO}$ 在己醇中的混合物改性纤维素,以所得混合物改性纤维素,制得纤维素磷酸酯凝胶(最大DS 2.5);在骨再生过程中,该凝胶可促进磷酸钙的生成^[354]。

POCl_3 可在不同反应介质(如DMF、吡啶)中使用,但由于存在交联反应,产物仅部分溶解。如果反应在DMF中进行,由于形成亚胺化合物,会有氯化反应伴生^[355];因此,纤维素与 PCl_3 、 PCl_5 和 POCl_3 的反应更适合在甲酰胺中进行^[356]。在非改性溶剂(如DMAc/LiCl)中,不能得到纤维素的可溶产物;由于发生自凝胶化反应,反应后为非均相体系^[357]。 N_2O_4 /DMF是纤维素磷酸酯化反应的良好溶剂,1molAGU采用6mol POCl_3 和6molTEA,在50℃反应4h,可得DS 0.8的产物。大剂量过量的反应剂会导致反应混合物迅速胶凝化,产物收率降低;在TEA之后加入 POCl_3 /DMF,可将氯化反应降至最低程度;DS 0.3~0.6的产物可溶于水^[358]。为了降低 POCl_3 的反应活性,可采用水对 POCl_3 进行部分水解,或以 N_2O_4 处理 POCl_3 ^[359]。纤维素磷酸酯的水溶性明显受后处理条件影响,因为在后处理过程中,交联的二酯基可能发生水解。多聚四磷酸与纤维素乙酸酯反应后,再进行脱乙酰化反应,可获得水溶性的纤维素磷酸酯^[360]。

7.3 硝酸酯

多糖硝酸酯通常由多糖与硝酸和硫酸的混合物反应制备,菊粉与含48.5% HNO_3 和51.2% H_2SO_4 的混合物反应,得菊粉硝酸酯(13.75%N);以20.8% HNO_3 和62.8% H_2SO_4 的混合物改性菊粉,产物含N 12.8%^[361]。以含 $\geq 38\%$

以 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 为硝化剂, 由于存在竞争反应, 会引入了纤维素硫酸酯, 因此硝酸酯的最大 DS 值不超过 2.9。硫酸半酯基是导致粗纤维素硝酸酯不稳定的原因, 用固定 pH 值的沸水小心洗涤, 可得稳定的纤维素硝酸酯。

采用 90% HNO_3 与磷酸和脱水剂 P_2O_5 的混合物^[366], 或者 90% HNO_3 与乙酸酐的混合物^[367], 均可对纤维素进行完全硝酸酯化改性 ($\text{DS}=3$), 中间体乙酰硝酸酯是高反应活性的硝化试剂。无水 HNO_3 与二氯甲烷或氯仿共同使用, 生成 $\text{DS } 2.87\sim 2.94$ 的纤维素硝酸酯, 该酯稳定性很好^[368]。DS3 的纤维素硝酸酯可用于分析领域, 如用于黏度法或 SEC 法测定分子量和分子量分布。在无水条件下, 硝化反应不影响多糖的 DP。

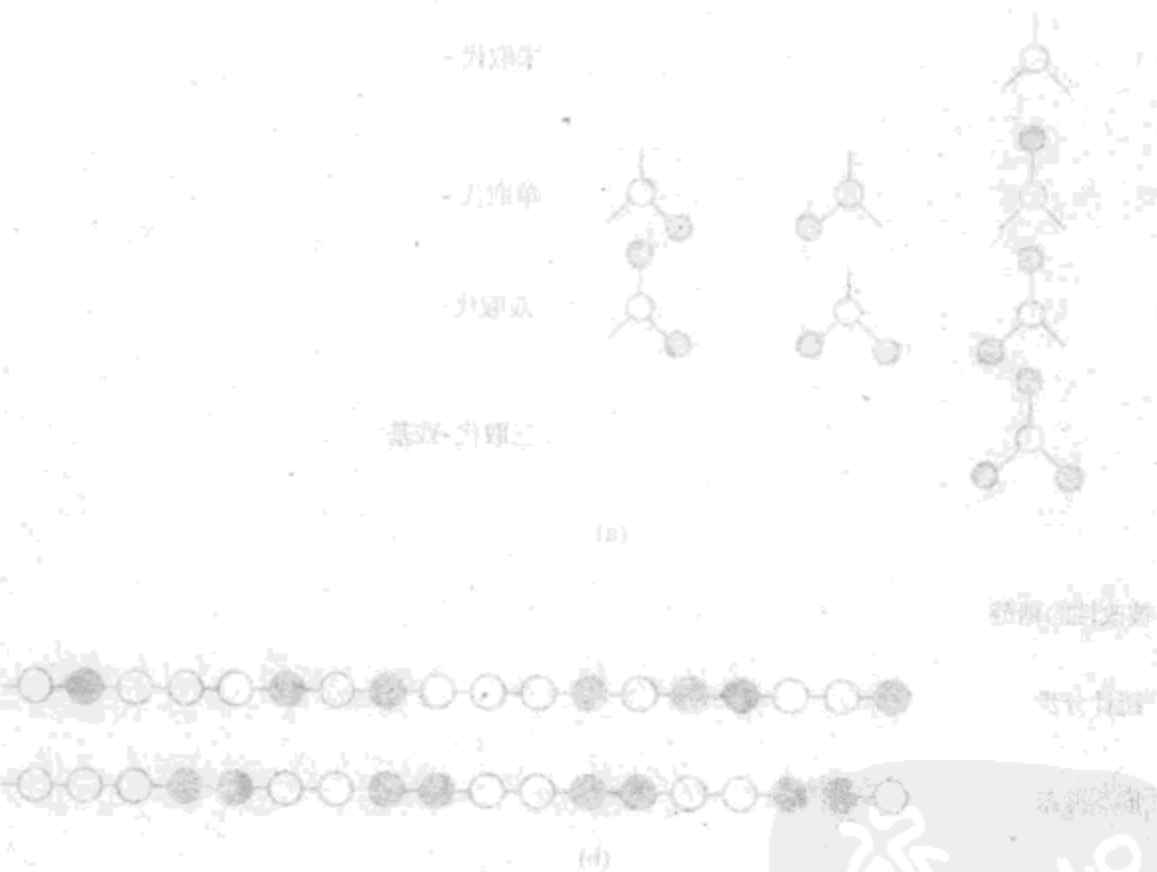


图 1.8-1 纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图

纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图。纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图。纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图。

纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图。纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图。纤维素单元重复单元 (a) 及纤维素单元重复单元 (b) 和纤维素单元重复单元 (c) 和纤维素单元重复单元 (d) 的示意图。

8 多糖酯的结构分析

改性多糖的结构分析远不止结构确认那么简单,酯基的化学结构、DS、酯基在糖原和糖链上的分布情况(见图 8.1)对多糖酯的性质均存在很大影响,需进行全面详细地分析。

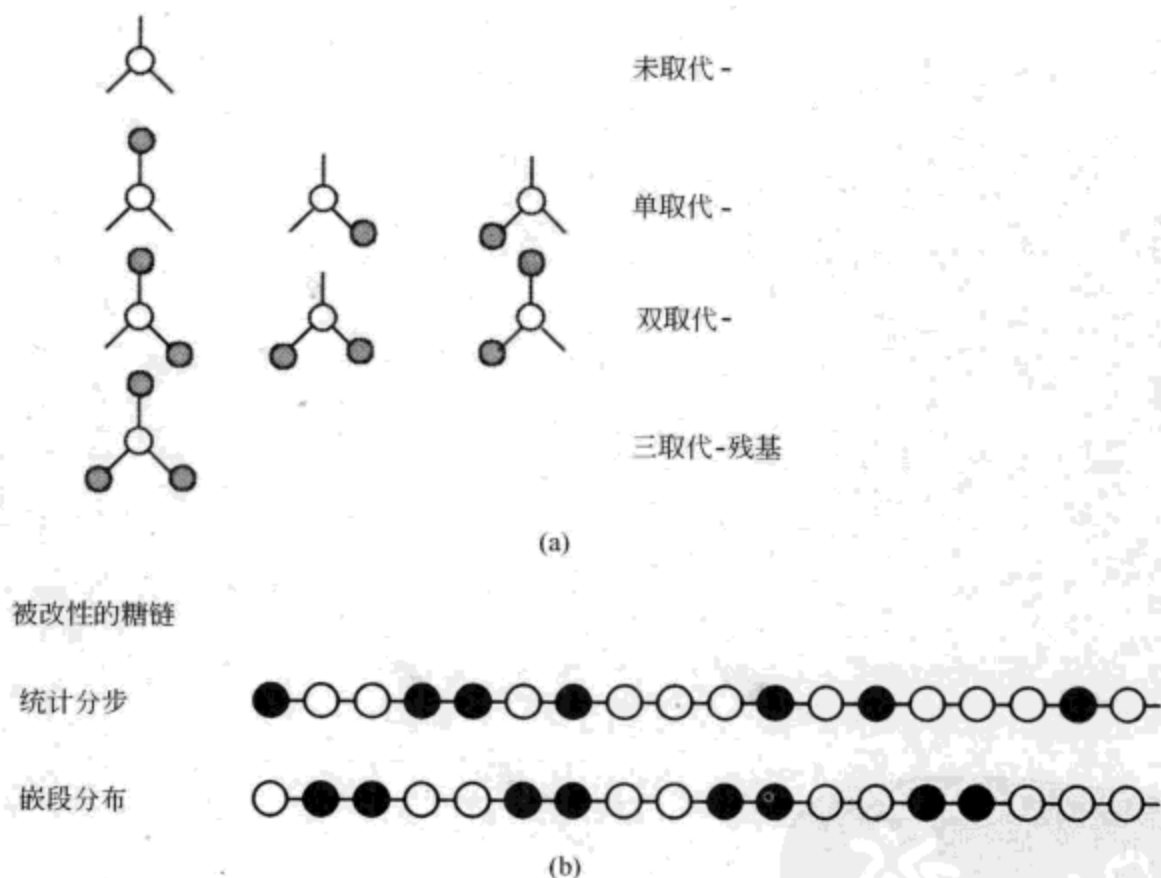


图 8.1 具有三个反应官能团的多糖的可能取代方式: (a) 重复单元上的取代方式; (b) 高分子链上的分布情况

在化学改性过程中,高分子骨架也可能发生副反应,尽管这些副反应的程度可能非常低,但副反应产生的结构是无法从高分子链中去除的,因此必须对这些“结构不纯净性”加以分析确定。要建立多糖酯的结构-性能关系,准确、可信的结构信息(改性反应类型、DS、取代方式)是必不可少的,具有设计改性方式的反应可用于对产物性能进行微调(如表 8.1 中纤维素乙酸酯的水溶性^[89])。

多糖酯的结构分析数据对了解合成方法和产物纯度的可再现性非常重要,新型多糖酯,如带敏感杂环基的多糖酯,通常无法用“标准方法”分析,因此,目前迫切需要开发新的多糖分析方法。

表 8.1 具有不同取代方式的纤维素乙酸酯的水溶性^[89]

方法 ^①	总 DS ^②	不同位的 DS ^②			水溶部分 (质量分数)/%
		2	3	6	
1	0.49	0.16	0.13	0.20	29
1	0.66	0.23	0.20	0.23	99
1	0.90	0.31	0.29	0.30	93
2	0.73	0.18	0.19	0.36	30
3	1.10	0.33	0.25	0.52	5

① 所用方法：I. 用乙酸水溶液对纤维素三乙酸酯进行脱乙酰化反应；II. 纤维素三乙酸酯与肼反应；III. 纤维素与乙酸酐在 DMAc/LiCl 中进行均相乙酰化反应。

② 由 ¹³C NMR 法测定。

如第 3 章所讨论，采用光谱法、色谱法和 NMR 法，可以获得高分子骨架的大部分结构信息，本章将介绍测定酯化反应结果、DS 和取代方式的具体分析技术，并详细阐述如何分析最重要的多糖酯——纤维素乙酸酯的取代方式，其他多糖酯的详细光谱数据参见第 3 章、第 5 章的相关内容。

从合成化学的角度，NMR 光谱法是在分子水平上进行详细结构分析最可信、最有力和最有效的方法。在过去的二十年里，研究人员开发了许多有用的色谱方法，这些方法在获取特定结构信息方面具有很大应用潜力，但色谱分析通常要求预先对样品进行多步衍生化处理，所得结果容易产生偏差，因此，色谱法只能由经验丰富的分析人员完成。

8.1 化学分析法——标准方法

用 NaOH 或 KOH 水溶液对多糖衍生物的酯基进行皂化，再反滴定过量碱，是最老、也是最容易的 DS 测定方法之一，这种方法对测定葡聚糖、半乳聚糖、果聚糖的短链脂肪酸酯 (C₂~C₄) 相当准确。对于含酸性基团 (COOH) 或碱性基团 (NH) 的多糖酯，结果可能存在明显误差。

长链脂肪酸酯需要强的水解条件 (0.5mol/L NaOH, 50℃ 加热 48h^[372])。在溶液中进行皂化反应，如在丙酮中，可测定混合多糖酯的总酰基量，如纤维素乙酰丙酯和乙酰丁酯；这一过程可克服一般非均相皂化反应中存在的困难，因为溶液中的测试不受样品状态影响，所需时间更短，准确性也略高^[373]。在分析含 C₂~C₄ 酸酯的多糖酯时，首先将多糖酯在碱水溶液中完全水解，再以与碱金属等量的高沸点无机酸处理，蒸馏剩余物，所有低分子脂肪酸以馏分形式分离，以标准碱液对一定量馏分进行滴定，得总酸量；分级萃取后再滴定，可得不同脂肪酸含量^[374]。

采用酸-碱滴定法，也可分析多糖与聚羧酸 (如 1,2,3,4-丁四羧酸) 的酯交联反应情况，通过乙酸钙反滴定，可测定酯和自由羧酸的浓度^[375,376]。

常用电位滴定法分析多糖二羧酸酯和羟基聚羧酸 (如柠檬酸、苹果酸、酒石酸) 的多糖酯^[377,378]。分析不饱和酯，如淀粉丙烯酸酯，可采用溴化物/溴酸盐法

或高锰酸滴定法^[379]。

对含杂原子的酯，最简单的方法是元素分析，DS 值可由方程 (8.1) 计算：

$$DS = \frac{\%(\text{被分析元素})M_r(\text{糖残基}) - 100aM_r(\text{糖残基})}{100bM_r(\text{被分析元素})M_r(\text{引入基团})} \quad (8.1)$$

式中 $\%(\text{被分析元素})$ ——元素分析所得含量（如杂原子含量）；

a ——重复单元中该元素的个数；

b ——引入基团中该元素的个数；

$M_r(\text{糖残基})$ ——重复单元的摩尔质量；

$M_r(\text{被分析元素})$ ——被分析元素的原子量；

$M_r(\text{引入基团})$ ——引入基团的摩尔质量。

8.2 光谱法

除了表 3.2 给出的多糖特征峰， $1740 \sim 1750\text{cm}^{-1}$ 处的强峰为酯 $\text{C}=\text{O}$ 的特征伸缩振动峰；不饱和酯的酯 $\text{C}=\text{O}$ 峰向低波数移动（约 20cm^{-1} ）；带强吸电子基的酯，如三氟乙酸酯，该峰位于 $1760 \sim 1790\text{cm}^{-1}$ ^[188]。

IR 光谱法也可用于定量分析大分子脂肪酸，以及伯羟基、仲羟基的分布情况。IR 法是测定低取代度衍生物的 DS 值的一种有用方法，对低取代淀粉乙酸酯，重现性好^[380]。淀粉乙酸酯皂化生成乙酸钠，乙酸钠的 FTIR 峰在 ATR 谱中也可见，由此可计算 DS，IR 法所得 DS 值与 NMR 法所得结果具有良好相关性^[381]。

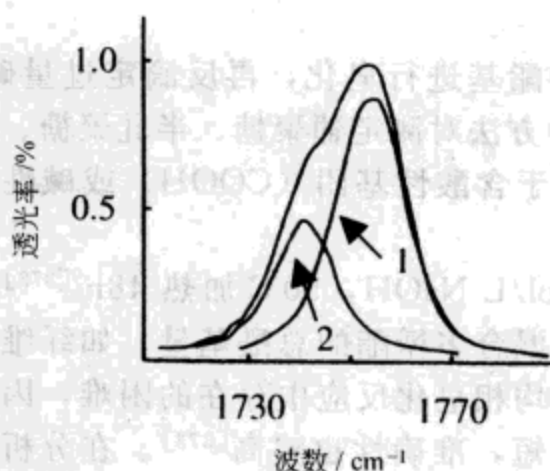


图 8.2 高取代度纤维素乙

酸酯 $\text{C}=\text{O}$ 的 IR 图

(0.15%~3.0%二氯甲烷溶液，

在 KBr 池中测定：1—2、3 位 $\text{C}=\text{O}$ 峰；

2—6 位 $\text{C}=\text{O}$ 峰^[383])

在高度取代的纤维素乙酸酯和混合酯 (0.15%~3.0%二氯甲烷溶液) 的 IR 谱中，在 1752cm^{-1} 、 1740cm^{-1} 处有两个峰，分别对应 2、3 位和 6 位酰基（见图 8.2），由这两个峰的峰面积可计算不同位置的取代比例。

如图 8.3 所示，脂肪酸酯的波数不受链长的影响，因此，这种技术可推广用于混合酯。

分析 OH 信号区，可以获得取代基的分布信息（见图 8.4）。

3660cm^{-1} 处为伯 OH 峰， 3520cm^{-1} 和 3460cm^{-1} 处为仲 OH 峰， 3580cm^{-1} 为伯 OH 氢键吸收峰^[382,383]。线性分析和去卷积处理对分析谱图很有帮助，现在许多 FTIR 谱仪都具有这些功能。

除了 IR 光谱，拉曼光谱和近红外光谱 (NIR) 也常用于多糖酯的研究，文献^[384] 对这两种方法进行了介绍。以已知 DS 的标准样品校正仪器，可对许多纤维

素衍生物, 包括纤维素甲基苯磺酸酯和纤维素邻苯二甲酸酯, 进行 DS 值测定, 结

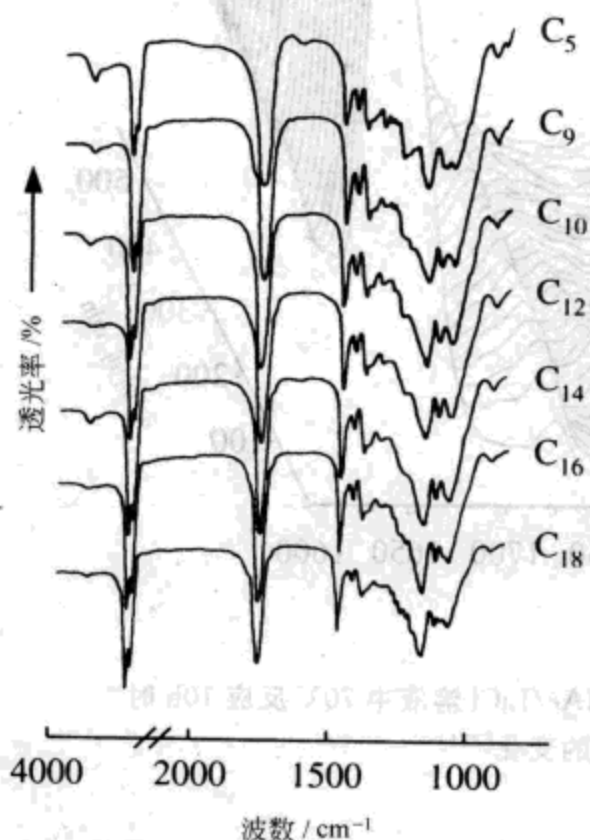


图 8.3 具有不同碳原子数 ($C_5 \sim C_{18}$) 的纤维素脂肪酸酯的 FTIR 图

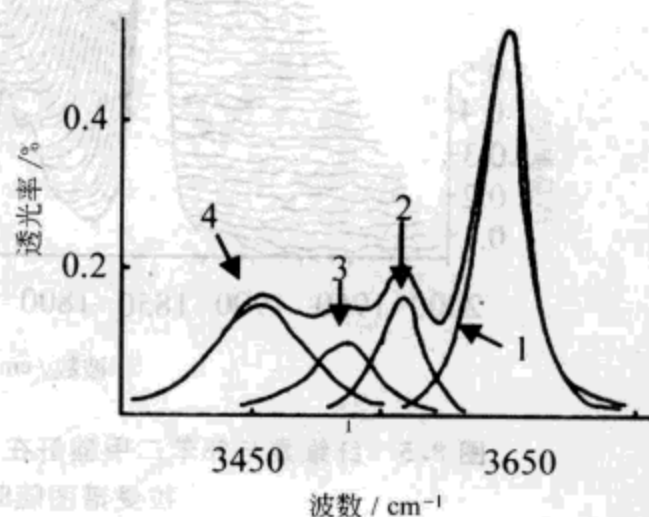


图 8.4 纤维素乙酸酯的 IR 图

(0.15%~3.0% 二氯甲烷溶液, 在 KBr 池中测定;
OH 区: 1—伯 OH; 2—伯 OH 的氢键; 3,4—仲 OH [382])

果表明, 共聚焦拉曼光谱是研究衍生物表面性质非常有力的手段, 拉曼遥感是测定酯化反应动力学和化学工程数据的有力工具, 拉曼传感器可采用非入侵嵌入的方式直接获取数据。采用拉曼光谱法测定了纤维素乙酸酯和纤维素邻苯二甲酸酯的合成过程, 纤维素与邻苯二甲酸酐在 DMAc/LiCl 溶液中, 70°C 反应 10h, 拉曼谱图随着时间的变化情况如图 8.5 所示, 由图 8.5 可见, 随着反应的进行, 1760cm^{-1} 、 1800cm^{-1} 、 1840cm^{-1} 处的酸酐信号逐渐消失, 1720cm^{-1} 处邻苯二甲酸信号逐渐增强。

由拉曼光谱法测定淀粉马来酸酯的 DS 值, 校正曲线具有高度线性 ($r > 0.99$)。在拉曼光谱分析中, 样品制备简单, 拉曼光谱法是一种简便、安全的测定多糖酯 DS 值的方法 [385]。

在采用 UV/Vis 光谱法分析样品前, 通常需对酯进行水解处理, 且需要制备多糖和酸的标准混合物, 并在酸的最大吸收波长处进行测定, 建立校正曲线。采用 UV/Vis 法, 可以很容易测定皂化多糖酯混合物的 DS 值, 如右旋糖苷胆汁酸酯, 将该酯溶解在 60% 乙酸中, 加入水/硫酸 (13/10, 体积比) 混合物, 70°C 处理 30min, 冷却后在 378nm 处测定, 可获得共价连接的胆汁酸的含量 [216,217]。以类似方法分析纤维素邻苯二甲酸酯的皂化产物, 可得邻苯二甲酰基的含量 [386]。UV/Vis 法也可用于分析多聚羧酸酯, 如淀粉柠檬

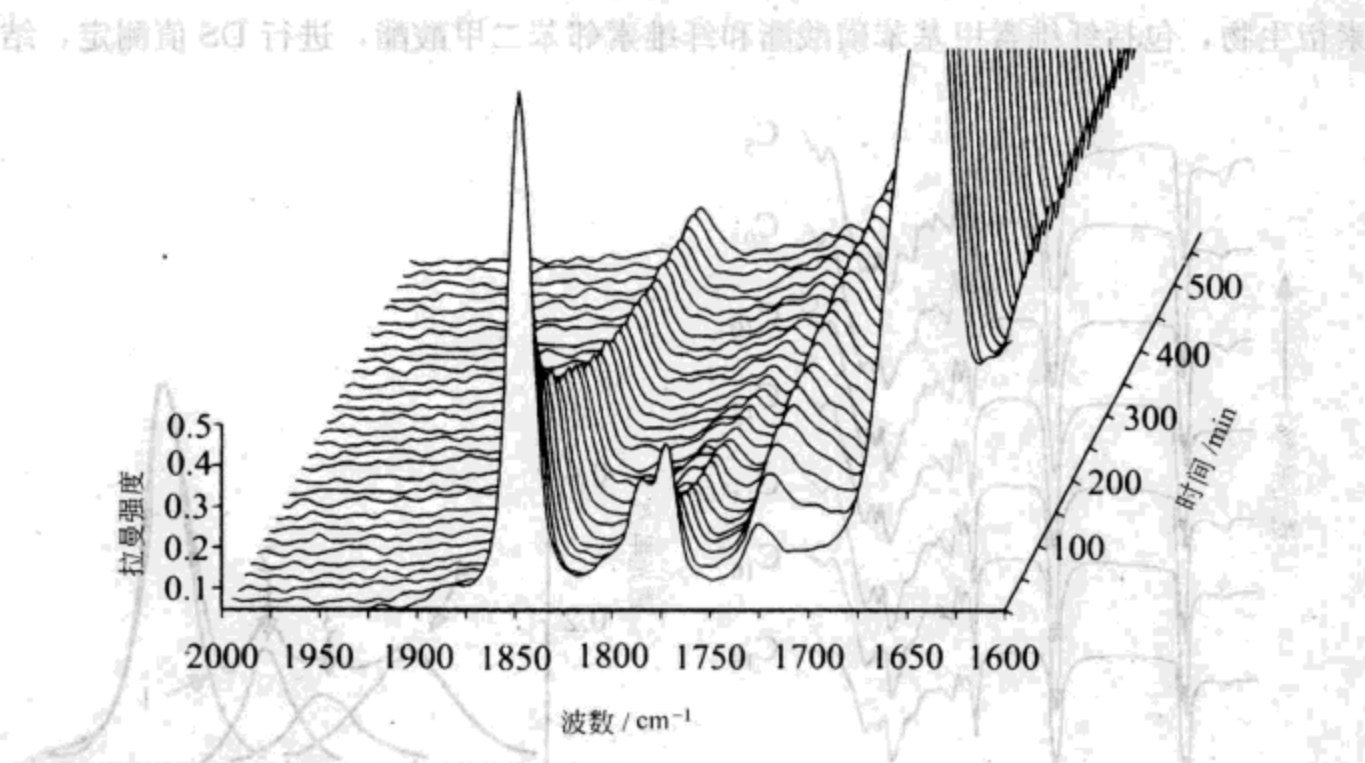


图 8.5 纤维素与邻苯二甲酸酐在 DMAc/LiCl 溶液中 70℃ 反应 10h 时拉曼谱图随时间的变化^[384]

酸酯^[387]。

UV/Vis 法是一种简单而有用的测定淀粉酯 DS 值的方法。测定碘-淀粉复合物的 UV/Vis 谱, 随 DS 增加, 复合物在 680nm 的吸收值 (蓝值) 降低, 监控 680nm 处吸收值的变化, 可了解乙酰化反应的反应进程^[381]。

8.3 NMR 法

NMR 法是最早用于测定多糖酯 DS 值以外结构的方法之一。Goodlett 等人在 1971 年采用 ^1H NMR^[388], Kamide 和 Okajima 在 1981 年采用 ^{13}C NMR^[389], 分别对纤维素乙酸酯进行了结构分析, 这些开创性的工作为 NMR 分析多糖结构开辟了主要道路, 包括信号全归属、测定不同反应条件下所得多糖酯的取代方式、结构-性能关系的建立。3.2 节对样品制备和聚合物骨架的特征峰作了介绍, 多糖衍生物的 NMR 测试通常在溶液中进行, 衍生物的溶解性主要取决于 DS 值和聚合物类型。多糖酯的常用 NMR 溶剂如表 8.2 所示, DMSO- d_6 是部分取代酯的优选试剂, 因为 DMSO- d_6 可溶解 DS 范围很宽的聚合物, 而且其价格相对较便宜。

文献 [63] 综述了 ^{13}C NMR 法在纤维素酯结构分析中的应用情况。对于大部分 (1→4) 连接的多糖, 如淀粉和纤维素, 伯 OH 的酯化反应使得相连碳原子的信号向低场 (高 δ 值, $\delta 2\sim 8$) 移动; 相反, 与酯化 OH 所连碳原子相邻的糖苷键碳原子向高场移动 $\delta 1\sim 4$, 多糖其他碳原子的信号分裂和化学位移取决于相连酯基的电子结构, 如图 8.6 中纤维素全硫酸半酯和纤维素全乙酸酯的 NMR 谱图所示。完全解析 NMR 谱图需采用二维 NMR 技术。

表 8.2 液态¹³C NMR 和¹H NMR 法测定多糖酯的常用 NMR 溶剂

试 剂	¹ H 位移(多重性)	水的 ¹ H 位移	¹³ C 位移(多重性)	沸点/℃
氘代丙酮-d ₆	2.04(5)	2.7	29.8(7) 260.0(1)	57
氘代乙腈-d ₃	1.93(5)	2.1	1.3(7) 118.2(1)	82
CDCl ₃	7.24(1)	1.5	77.0(3)	62
D ₂ O	4.65(1)			101.4
DMF-d ₇	2.74(5) 2.91(5) 8.01(1)	3.4	30.1(7) 35.2(7) 162.7(3)	153
DMSO-d ₆	2.49(5)	3.4	39.5(7)	189
CD ₂ Cl ₂	5.32(3)	1.4	53.8(5)	40
Py-d ₅	7.19(1) 7.55(1) 8.71(1)	4.9	123.5(5) 135.5(3) 149.9(3)	116
THF-d ₈	1.73(1) 3.58(1)	2.4	25.3(1) 67.4(5)	66
Toluene-d ₈	2.09(5) 6.98(m) 7.00(1) 7.09(m)	—	20.4(7) 125.2(3) 128.0(3) 128.9(3) 137.5(1)	111
TFA-d ₁	11.5(1)		116.6(4) 164.2(4)	72

部分改性衍生物的 NMR 谱是混合谱图（见图 8.6），且不同取代方式会导致谱线增宽，故所得谱图将非常复杂；但是，由糖苷键碳原子的信号分裂情况及信号强度，可以了解其相邻碳的改性程度。

由纤维素乙酸酯的解析，可以了解 NMR 法解析多糖有机酯结构的全过程，该技术可类似应用到其他多糖酯。表 8.3 为纤维素三乙酸酯的¹³C NMR 特征化学位移。

上述信号归属是通过与标准化合物（如全乙酰化纤维二糖、全乙酰化纤维四糖、全乙酰化纤维五糖和纤维素）的化学位移比较所得^[391~393]。类似地，对全乙酰化均聚普鲁兰^[102]和右旋糖苷的¹³C NMR 谱图进行了指认，表 8.4 为聚合物骨架重复单元为麦芽三糖的全乙酰化普鲁兰的¹³C NMR 数据。

如上所述，由纤维素乙酸酯的¹³C NMR 谱图，不但可以完成结构表征，还可以测定部分改性聚合物的总 DS 值及乙酰基在重复单元 2、3、6 位的分布情况^[394,395]。DS 1.7、DS 2.4 和 DS 2.9 的纤维素乙酸酯的 C-1~C-6 具有相同 NOE 值，表明由 NMR 法所得 2、3 和 6 位的部分取代度结果正确；计算中采用了 δ59.0（C-6 未取代）、δ62.0（C-6 取代）、δ79.6（C-4，C-3 无取代）、δ75.4（与取代 C-3 相连的 C-4）、δ101.9（与未取代 C-2 相连的 C-1，）和 δ98.9（与取代 C-2 相连的 C-1）的¹³C NMR 信号。

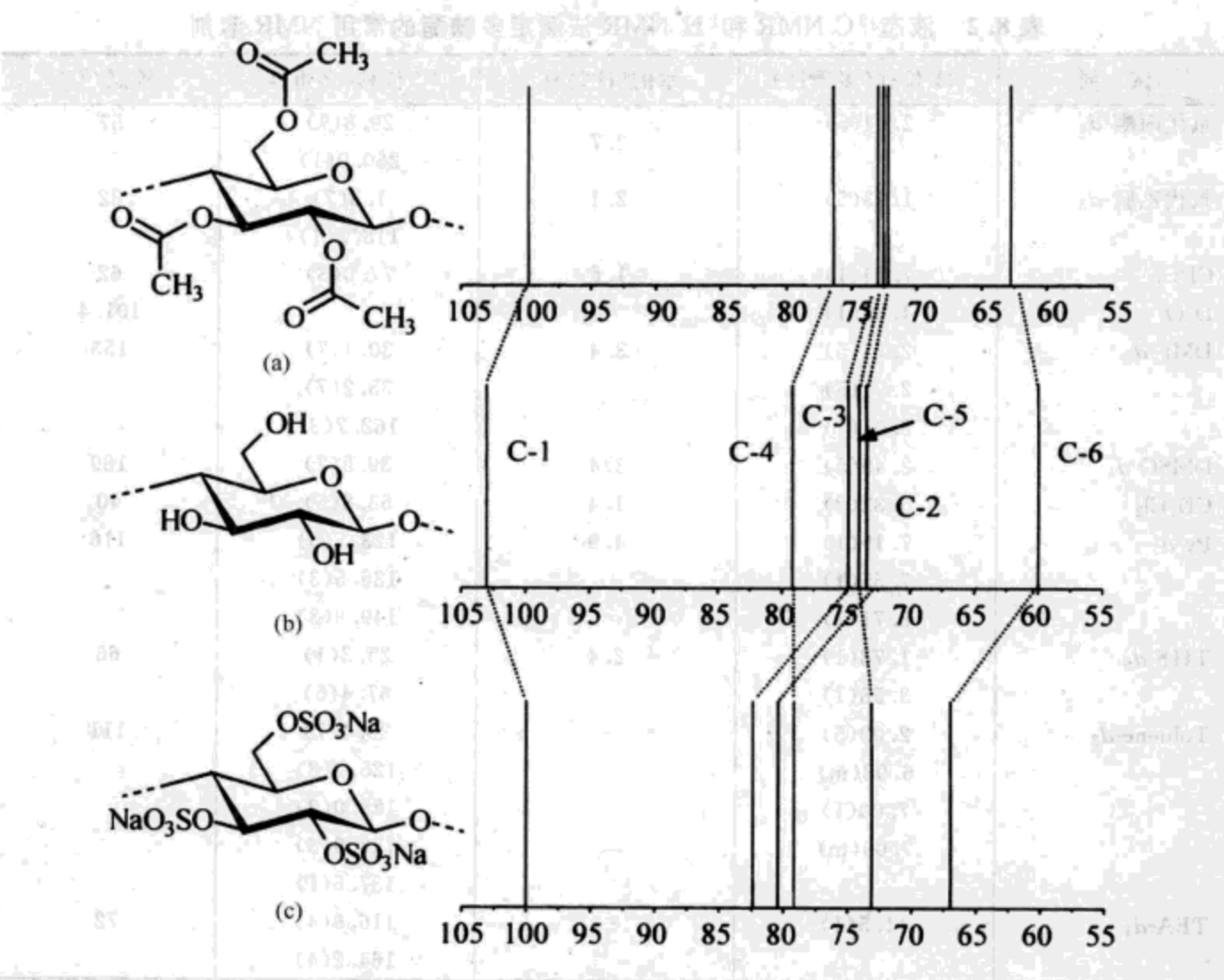
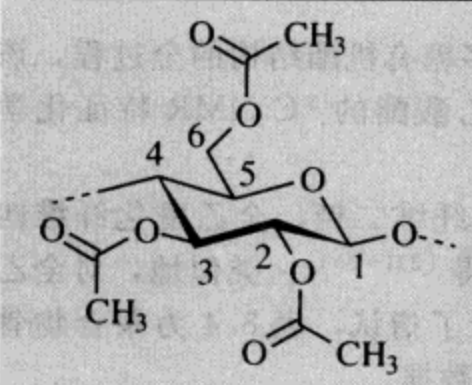


图 8.6 纤维素 (b)、全硫酸化纤维素 (c) 和全乙酰化纤维素 (a) 的¹³C NMR 谱图及酯化引起的特征位移

表 8.3 纤维素三乙酸酯的¹³C NMR 化学位移^[390]

	δ ^①	
	DMSO- <i>d</i> ₆ 90℃	CDCl ₃ 25℃
C-1	99.8	100.4
C-2	72.2	71.7
C-3	72.9	72.5
C-4	76.4	76.0 ^②
C-5	72.5	72.7
C-6	62.8	61.9

① CDCl₃ 在 δ77.0 出峰；DMSO-*d*₆ 在 δ35.9 出峰。

② 偶合共振与溶剂共振重叠。

表 8.4 普鲁兰全乙酸酯的碳信号归属

位置	化学位移		位置	化学位移		位置	化学位移	
	麦芽三糖	C—O		麦芽三糖	C—O		麦芽三糖	C—O
A1	95.62	—	B1	95.99	—	C1	95.60	—
A2	70.58	170.72	B2	71.32	170.45	C2	70.10	170.52
A3	71.89	169.64	B3	72.30	169.42	C3	69.79	169.85
A4	72.76	—	B4	73.88	—	C4	68.39	169.02
A5	69.00	—	B5	69.77	—	C5	68.03	—
A6	62.84	170.32	B6	63.10	170.34	C6	64.80	—

注：各位置见图 2.4 [102]。

当多糖酯的 DS 范围较宽时，简单比较相关峰的强度，还不能得到多糖酯取代基的具体分布情况，主要原因在于 $\delta 70 \sim 85$ 附近存在信号重叠，信号重叠主要来源于未取代的 C-2~C-5、酰基化的 C-2 和 C-3、以及 3 位酰基化引起的 C-4 化学位移；此外，在 ^{13}C NMR 定量分析中，较长的脉冲重复时间会导致相关信号 T_2 弛豫，环碳原子常出现谱线增宽现象。

几位研究者对乙酰基 C=O 信号的归属进行过研究^[396]，乙酰基甲基和 C=O 的信号为重叠的多重峰，这些峰反映了 $\text{DS} < 3$ 的纤维素乙酸酯的 8 种不同重复单元的详细取代情况及氢键系统。对乙酰基的甲基碳原子进行低功率选择性去耦合分析，可初步指认纤维素乙酸酯的 C=O 峰^[397]；也可通过分析纤维素三乙酸酯的 C-H COSY 谱，对 C=O 信号进行指认（见表 8.5^[398]）。

表 8.5 纤维素乙酸酯的羰基区的 ^{13}C NMR 信号归属^[397]

δ	碳的位置	改性的吡喃葡萄糖原	δ	碳的位置	改性的吡喃葡萄糖原
170.04	6	6-单取代	169.41	3	3,6-二取代
170.00	6	2,6-二取代	169.35	3	3,6-二取代
169.94	6	2,3,6-三取代	169.22	3	2,3-二取代
169.89	6	3,6-二取代	169.11	3(2)	2,3,6-三取代(2,6-二取代)
169.83	6	3,6-二取代	168.93	2	2-单取代-2,6-二取代
169.60	3	3-单取代	168.79	2	2,3,6-三取代-2,3-二取代
169.46	3	3,6-二取代	168.71	2	2,3-二取代

Buchanan 等人提出了一种解析纤维素乙酸酯 $[1-^{13}\text{C}]$ 结构的好方法，该方法适用于由不同方法制备的、具有宽 DS 值的纤维素乙酸酯^[399]。采用不同 NMR 技术，包括 INAPT，可分辨共 16 个羰基碳峰，所得归属与表 8.5 有所不同，但由此可指认具有特定取代方式的重复单元的 C-2 和 C-3 羰基碳峰。

尽管在定量分析实验中， ^1H NMR 具有更快速、更简单的特点，但对于部分改性的多糖酯， ^1H NMR 仍然存在一定局限性，因为重复单元存在不取代、单取代、双取代和三取代四种可能性，且取代基可能以不同组合形式出现在重复单元上，所得谱图异常复杂（见图 8.7）。

但是，运用相敏 COSY NMR 和延迟 COSY NMR 对 DS 2.46 的纤维素乙酸酯进行研究，对比这两种谱图与模拟谱（九种谱图）和模型化合物的 NMR 谱图，如纤维四糖全乙酰化酯，发现存在九种不同旋转方式，2,3,6-三乙酰葡萄糖残基与四种不同乙酰化葡萄糖单元相连，其中有两种 2,3-二乙酰葡萄糖残基，一种 2,6-二乙酰葡萄糖

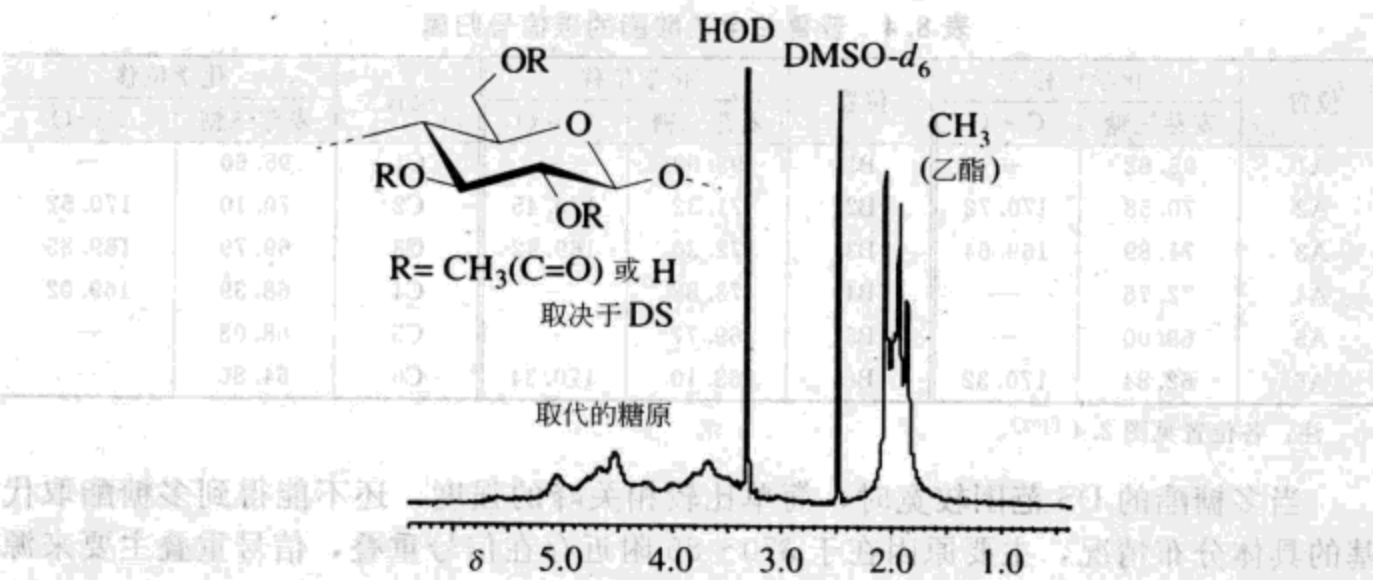


图 8.7 纤维素乙酸酯的¹H NMR 谱图 (DS 2.37)

残基和一种 6-单乙酰化葡萄糖残基^[400]。

与部分酰基化多糖不同，完全取代的聚合物具有可解析的¹H NMR 谱，如图 8.8 和表 8.6 中纤维素三乙酸酯的¹H NMR 数据。

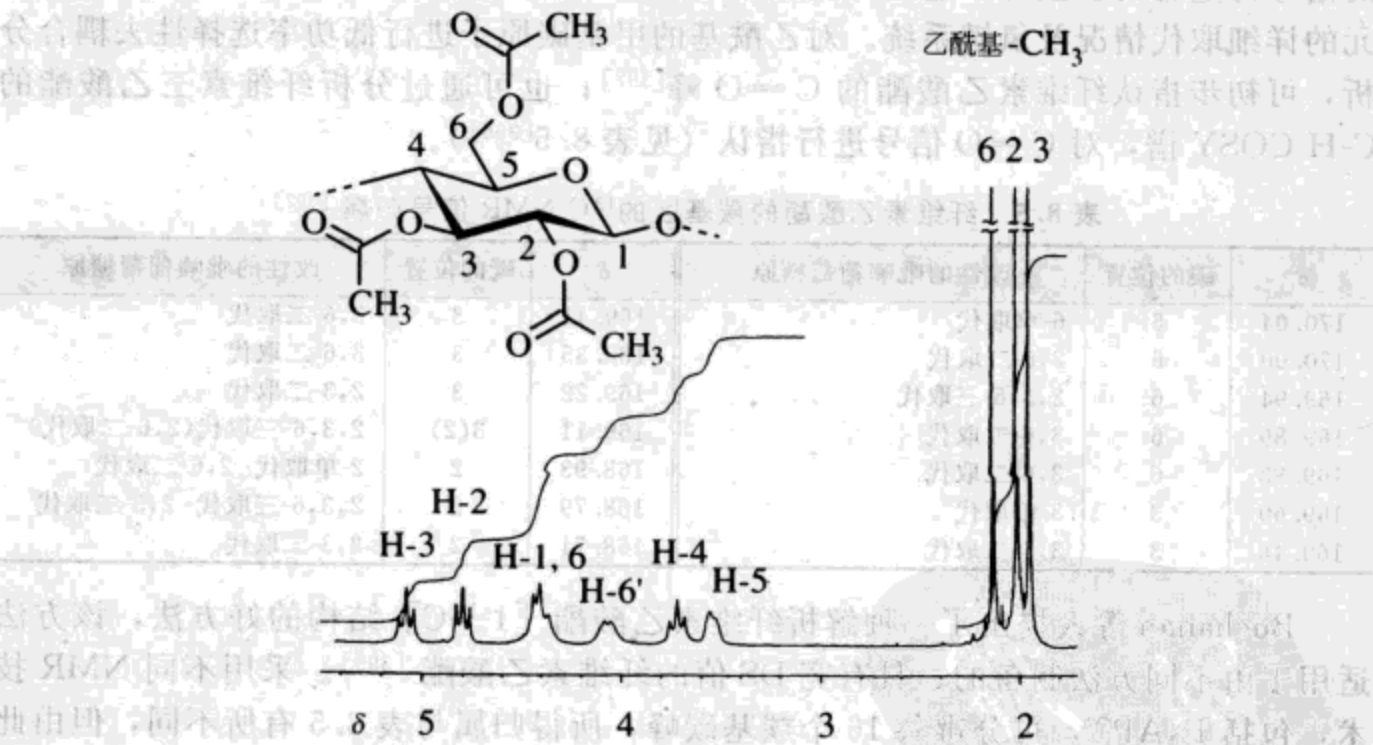


图 8.8 纤维素三乙酸酯的¹H NMR 谱图^[151]

表 8.6 纤维素三乙酸酯的¹H NMR 化学位移

信号	纤维素三乙酸酯的 δ			信号	纤维素三乙酸酯的 δ		
	DMSO- d_6 (25℃)	DMSO- d_6 (80℃)	CDCl ₃ (25℃)		DMSO- d_6 (25℃)	DMSO- d_6 (80℃)	CDCl ₃ (25℃)
H-1	4.65	4.65	4.42	H-5	3.81	3.77	3.47
H-2	4.52	4.55	4.79	H-6'	4.22	4.26	— ^①
H-3	5.06	5.04	5.07	H-6	3.98	4.04	4.06
H-4	3.65	3.68	3.66				

① H-6' 信号来源于邻位手性 C-5 导致的信号分裂和与 H-1 峰的重叠。

其他完全改性的多糖酯的全谱解析和结构分析也有所报道，表 8.7 为全取代普鲁兰乙酸酯的¹H NMR 数据。

表 8.7 全取代普鲁兰乙酸酯的¹H NMR 化学位移^[102]

位 置	化学位移		位 置	化学位移		位 置	化学位移	
	麦芽三糖	CH ₃		麦芽三糖	CH ₃		麦芽三糖	CH ₃
A1	5.26	—	B1	5.10	—	C1	5.31	—
A2	4.71	2.02	B2	4.70	2.07	C2	4.76	2.01
A3	5.38	1.99	B3	5.49	1.96	C3	5.32	1.96
A4	3.88	—	B4	3.90	—	C4	5.13	2.05
A5	3.97	—	B5	3.92	—	C5	3.94	—
A6	4.17, 4.43	2.13	B6	4.28, 4.41	2.14	C6	3.57, 3.72	—

8.4 后续改性

许多分析技术均要求，在测试前须对多糖酯进行完全衍生化。在¹³C NMR 分析过程中，后续改性引入的基团，如乙酰基，可用作内部探针。完全改性也是获取具有足够分辨率的定量用¹H NMR 谱的必要前提。用色谱法解析多糖酯结构时，也必须先将水解不稳定的酯衍生为稳定的醚，以保证水解后，可获得保留了多糖结构信息的重复单元混合物；可采用色谱分离检测这些混合物。

8.4.1 NMR 法分析完全改性的衍生物

对部分改性的多糖酯的剩余羟基进行全乙酰化改性，以乙酰基的 C=O 碳原子为敏感探针，进行 NMR 检测，可以分析部分改性多糖酯的取代方式^[401]。采用 DMAP 为催化剂，以丙酸酐对多糖酯进行全乙酰化改性，¹H NMR 和 IR 谱显示，OH 已被完全转化（谱图中无羟基峰出现）。多糖三酯乙酰化改性的反应结果，以及不同反应条件下全乙酰化产物的总酰基含量恒定，均表明反应中无酯交换反应发生。

图 8.9 为全乙酰化纤维素乙酸酯（DS 1.43）C=O 的¹³C NMR 谱，该图信号分辨率好，乙酰基和丙酰基的两组三重峰截然分开，分别对应重复单元的 2、3、6 位碳原子。

采用¹³C NMR 定量分析法，可得全乙酰化样品 2、3、6 位的部分 DS 值，图 8.10 为不同 DS（DS 1.0~2.4）纤维素乙酸酯的全乙酰化产物的¹³C NMR 谱。¹³C NMR 定量法（逆转闸门去偶实验）是一种昂贵且耗时的技术，为了得到具有足够分辨率的谱图，常需高达 20000 次的扫描。

相比¹³C NMR 法，以¹H NMR 法测定多糖酯结构，速度更快（只需 16~64 次扫描）、成本更低，普通¹H NMR 谱的分辨率已足够进行准确的定量分析，现在，¹H NMR 法在多糖酯取代方式的定量分析中应用越来越广泛。在大部分情况下，在¹H NMR 测试前，需对多糖酯的未反应 OH 进行完全改性，因为完全改性可使得谱图大大简化，如图 8.11 中全乙酰化纤维素乙酸酯的¹H NMR 谱。在

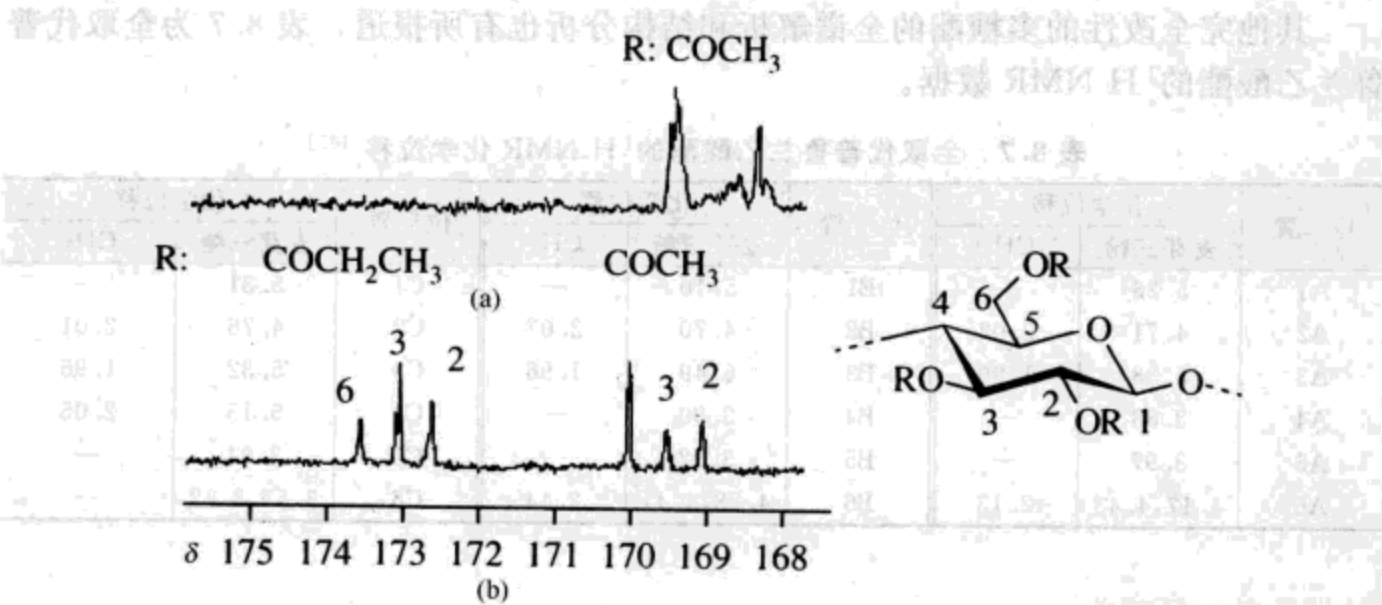


图 8.9 纤维素乙酸酯 [DS 1.43, (a)] 及其全丙酰化产物(b) 碳基的 ^{13}C NMR 谱图

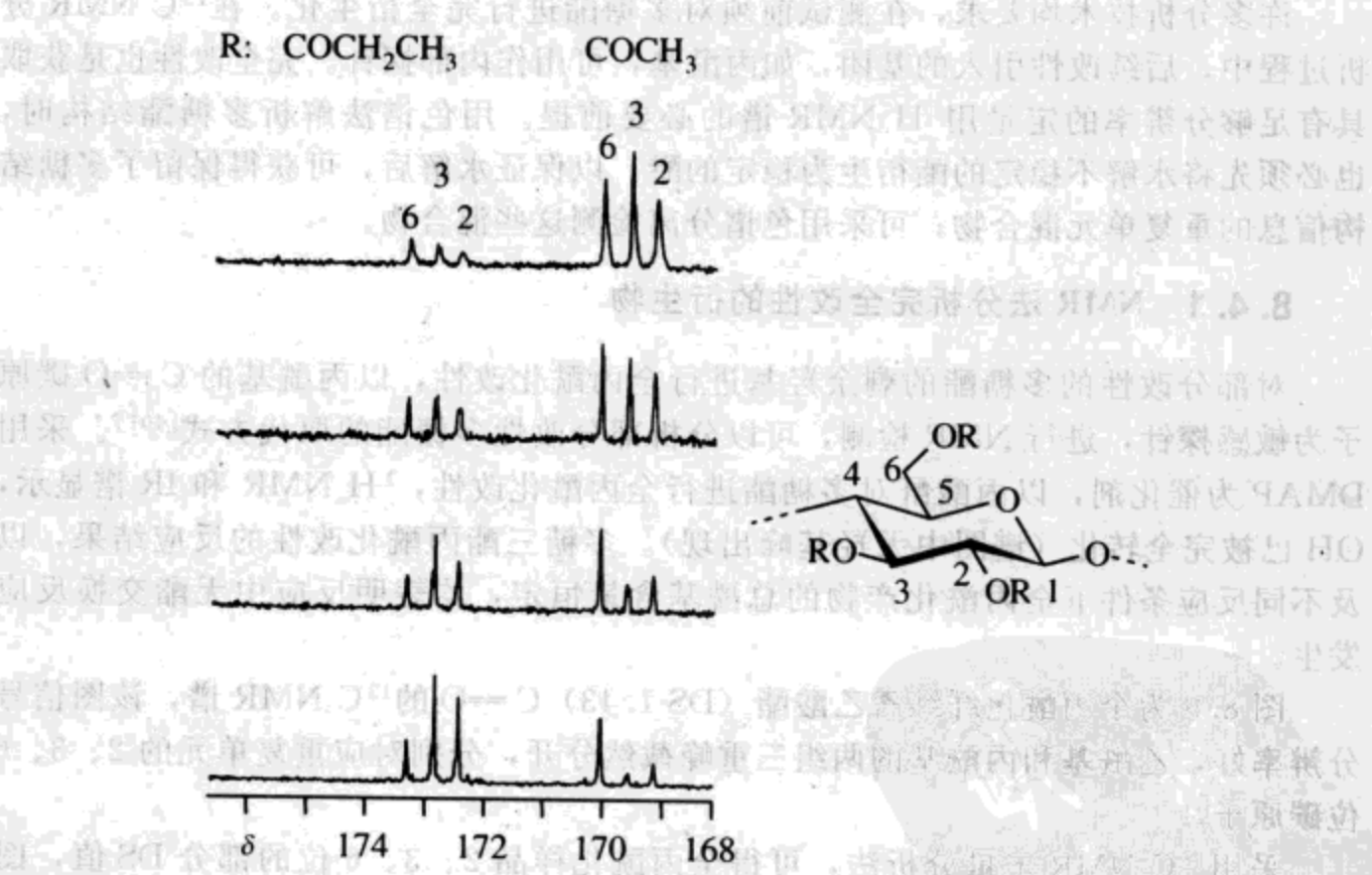


图 8.10 全丙酰化纤维素乙酸酯 [DS 0.98, DS 1.43, DS 1.90, DS 2.42 由 (a) 到 (d)] 的 ^{13}C NMR 谱图

Py 中，以乙酰- d_3 -氯或乙酰酐- d_6 对多糖酯进行氘代乙酰化，再进行 ^1H NMR 分析，是最早的 NMR 技术之一，且至今应用仍很广泛^[151,388]。该方法的缺点在于氘代乙酰化试剂相当昂贵，而且如果乙酰- d_3 -氯被乙酰氯污染，所得 DS 值将存在明显偏差，但无论如何，这是一种测定纤维素乙酸酯 2、3、6 位部分 DS 值的有用手段，计算重复单元质子与乙酰基甲基质子的信号积分比，即可得各 DS 值。

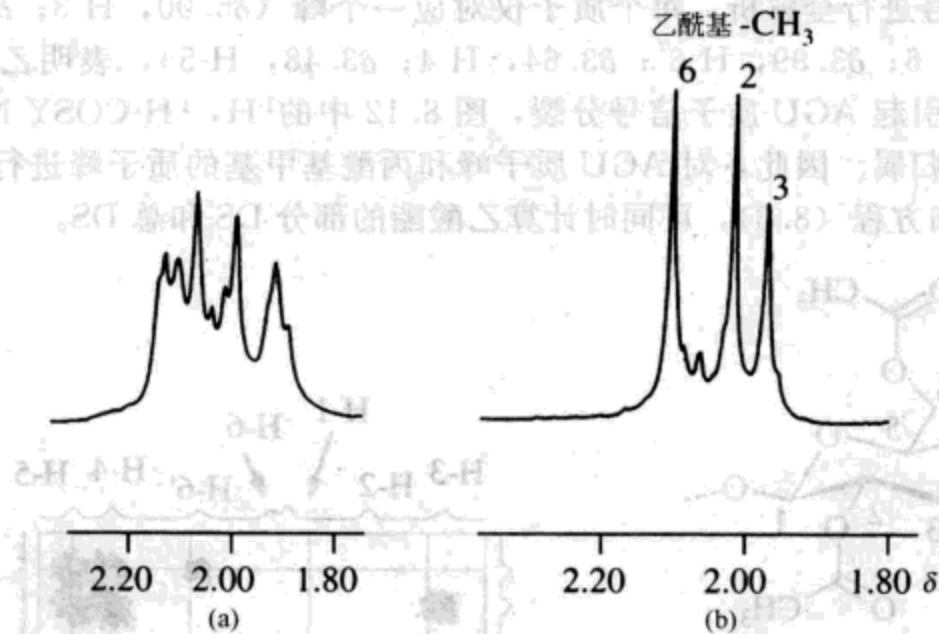


图 8.11 纤维素乙酸酯的 ^1H NMR 谱图: (a) 氘代乙酰化前; (b) 氘代乙酰化后^[151]

此外, 在 DMF 中, 室温, 以 N,O -(三甲基硅基) 乙酰胺和 1-甲基咪唑对具有宽范围 DS 值的纤维素乙酸酯进行三甲基硅烷化反应, 产物 ZR 羟基峰完全消失。如表 8.8 所示, 由 O -乙酰基和 O -三甲基硅基共振峰积分所得 DS 值, 与下面厂家提供的 DS 值以及化学分析所得 DS 值完全吻合; 但是, 这种方法无法测定各取代位的 DS 值。

表 8.8 由硅烷化反应和 NMR 法所得 DS 值与厂家提供 DS 值 (厂家) 的对比

样品 ^①	DS		
	厂家	方法 1	方法 2
A	0.80	0.81	0.76
B	2.10	1.97	2.05
C	2.50	2.28	2.50
D	3.00	2.77	3.00
E	2.45	1.86	2.43

① 样品 A~D 为 Eastman 产品, E 为 Aldrich 产品。

方法 1: 由全 O -三甲基硅烷化多糖 ^1H NMR 谱中的环碳氢和 O -乙酰基信号积分计算所得; 方法 2: 由 O -三甲基硅基和 O -乙酰信号积分计算所得^[402]。

通过全丙酰化改性, 可以测定不同多糖酯的结构, 由丙酰基信号可以同时计算总 DS 和部分 DS。商业纤维素二乙酯的测定结果显示, 该方法非常可靠。过量丙酸酐 [5mL 酸酐/(0.3g 酯)] 与商业纤维素二乙酯在 Py (5mL) 中, 70℃ 反应 16h, 可使羟基完全衍生化, FTIR 谱中 $\nu(\text{OH})$ 信号完全消失, 证明羟基已被完全改性。产物混合酯可很好地溶解于 CDCl_3 , 在 ^1H NMR 谱图 (见图 8.12) 中, 丙酰基信号位于 $\delta 1.03\sim 1.07$ (2 位和 3 位的 CH_3)、 $\delta 1.21$ (6 位 CH_3) 和 $\delta 2.21\sim 2.37$ (CH_2); 乙酰基 CH_3 的三个分离峰位于 $\delta 1.92$ (3 位)、 $\delta 1.97$ (2 位) 和 $\delta 2.08$ (6 位), AGU 的质子峰位于 $\delta 3.51\sim 5.05$ 。上述结果与由高灵敏 HMBC 技术和常规 2D-NMR 技术所得选择性改性的纤维素酯的 NMR 全解析结果一致^[403]。

对 AGU 信号进行全解析, 每个质子仅对应一个峰 ($\delta 5.00$, H-3; $\delta 4.73$, H-2; $\delta 4.33$, H-1, 6; $\delta 3.99$, H-6'; $\delta 3.64$, H-4; $\delta 3.48$, H-5), 表明乙酰基和丙酰基的存在没有引起 AGU 质子信号分裂, 图 8.12 中的¹H, ¹H-COSY NMR 谱进一步确认了上述归属。因此, 对 AGU 质子峰和丙酰基甲基的质子峰进行积分, 根据方程 (8.2) 和方程 (8.3), 可同时计算乙酸酯的部分 DS 和总 DS。

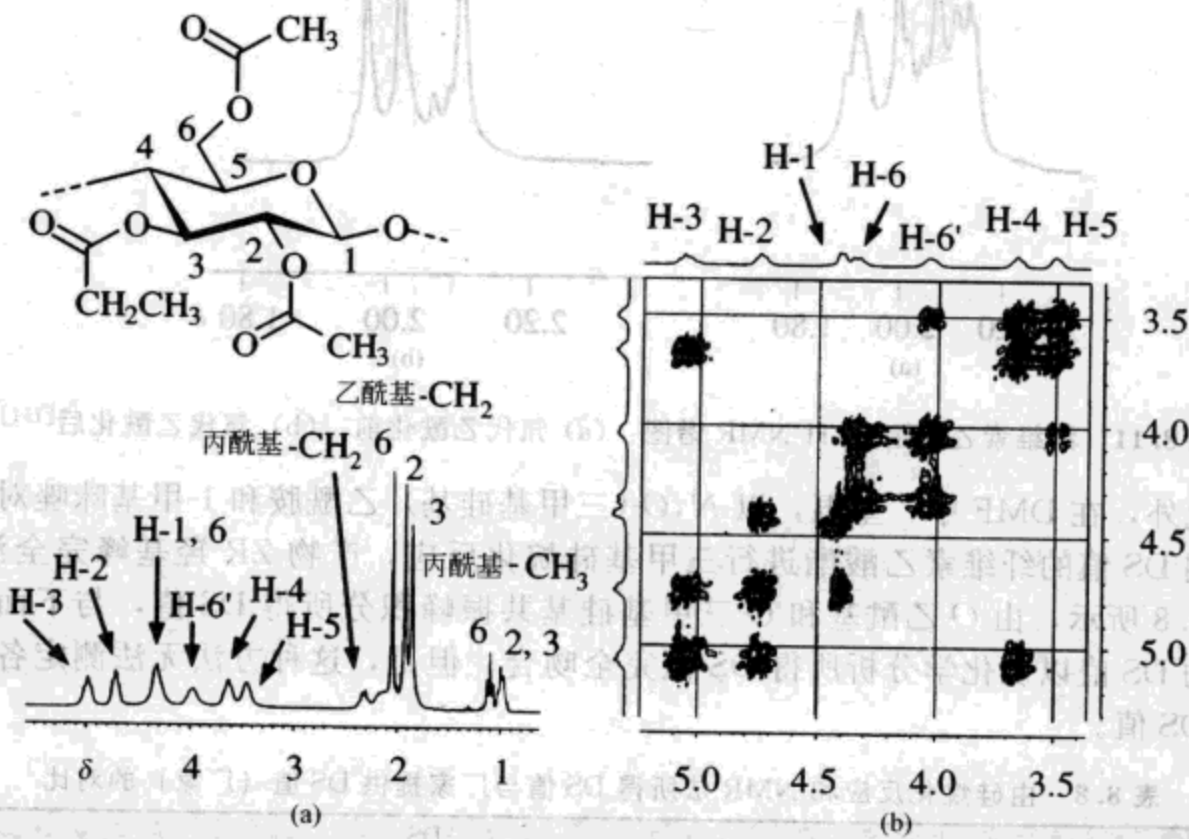


图 8.12 全丙酰化改性商业纤维素二乙酯所得纤维素乙酸丙酸酯的¹H NMR 谱图 (a) 和其¹H, ¹H-COSY NMR 谱图 (b) [(b) 标注了 AGU 质子的区域 (CDCl₃, 32 次扫描)]

$$DS_{\text{酰基}} = 3 - \frac{7I_{\text{H, 丙酰基}}}{3I_{\text{H, AGU}}} \tag{8.2}$$

$$DS_{\text{酰基}}(n) = 1 - \frac{7I_{\text{H, 丙酰基}}(n)}{3I_{\text{H, AGU}}} \tag{8.3}$$

式中 $DS_{\text{酰基}}$ ——酰基取代度;
 I ——峰面积积分;
 n ——2,3 或 6 位。

在 60~120℃ 不同温度下进行纤维素二乙酯的全丙酰化分析, 所得 DS 和取代基分布没有明显变化, 结果如表 8.9 所示, 表明该方法非常准确, 标准方差 $S^2 = 1.32 \times 10^{-4}$ 。该方法的准确性建立在完全脱除杂质的基础之上, 水和自由乙酸的存在会产生很大误差, 因此, 要求在 60℃ 对样品进行真空干燥。

表 8.9 由全丙酰化纤维二乙酯¹H NMR 谱计算的 DS 值

DS _{一次改性}	DS _{二次改性}	DS _{一次改性}	DS _{二次改性}
2.35	2.37	2.32	2.38
2.35	2.37	2.32	2.38

注: 纤维素二乙酯被丙酰化改性两次 (1 次和 2 次), 并采用¹H NMR 法测试 4 次。

对具有不同取代方式的纤维素乙酯进行全丙酰化改性，所得产物总 DS 为 2.97~3.01，介于该分析方法的标准误差范围内（见表 8.10）。如前所述，通过分析丙酰基的峰强度，或根据乙酰基在 $\delta 1.92$ （3 位）、 $\delta 1.97$ （2 位）和 $\delta 2.08$ （6 位）处的 CH_3 信号，可得部分 $\text{DS}_{\text{乙酰基}}$ 。

表 8.10 具有不同改性方式的纤维素乙酯的 DS 值

序号	摩尔比			部分 $\text{DS}_{\text{乙酰基}}$			$\text{DS}_{\text{丙酰基}}$	总 DS
	AGU	乙酰氯	碱	6	2,3	Σ		
A1	1	1.0	1.2	0.35	0.13	0.48	2.49	2.97
A2	1	2.0	2.4	0.82	0.51	1.33	1.66	2.99
A3	1	3.0	3.6	0.91	0.65	1.56	1.41	2.97
A4	1	4.5	4.5	1.0	1.24	2.24	0.77	3.01
A5	1	5.0	6.0	1.0	1.62	2.62	0.37	2.99

注：由全丙酰化产物的 ^1H NMR 谱所得^[127]。

全丙酰化改性对解析芳香多糖衍生物与不饱和多糖衍生物的结构也非常有用，通过分析取代基在 $\delta 5.1$ 以上区域的 ^1H NMR 信号，可得相关结构信息。运用这种方法，对在 $\delta 7.56$ 、 $\delta 7.20$ 和 $\delta 6.50$ 处有信号的淀粉、右旋糖苷和纤维素的糠酸酯、在 $\delta 7.82$ 、 $\delta 7.50$ 、 $\delta 6.87$ 、 $\delta 6.57$ 和 $\delta 6.23$ 处有信号的 3-(2-呋喃基)-丙烯酸酯以及纤维素脂环族酯，如纤维素金刚烷羧酸酯，进行了分析^[168,404,405]。图 8.13 为全丙酰化纤维素金刚烷酸酯的 ^1H ， ^1H -COSY NMR 谱，两类取代基信号分辨率好，根据方程（8.2）和方程（8.3），可计算 DS 值。

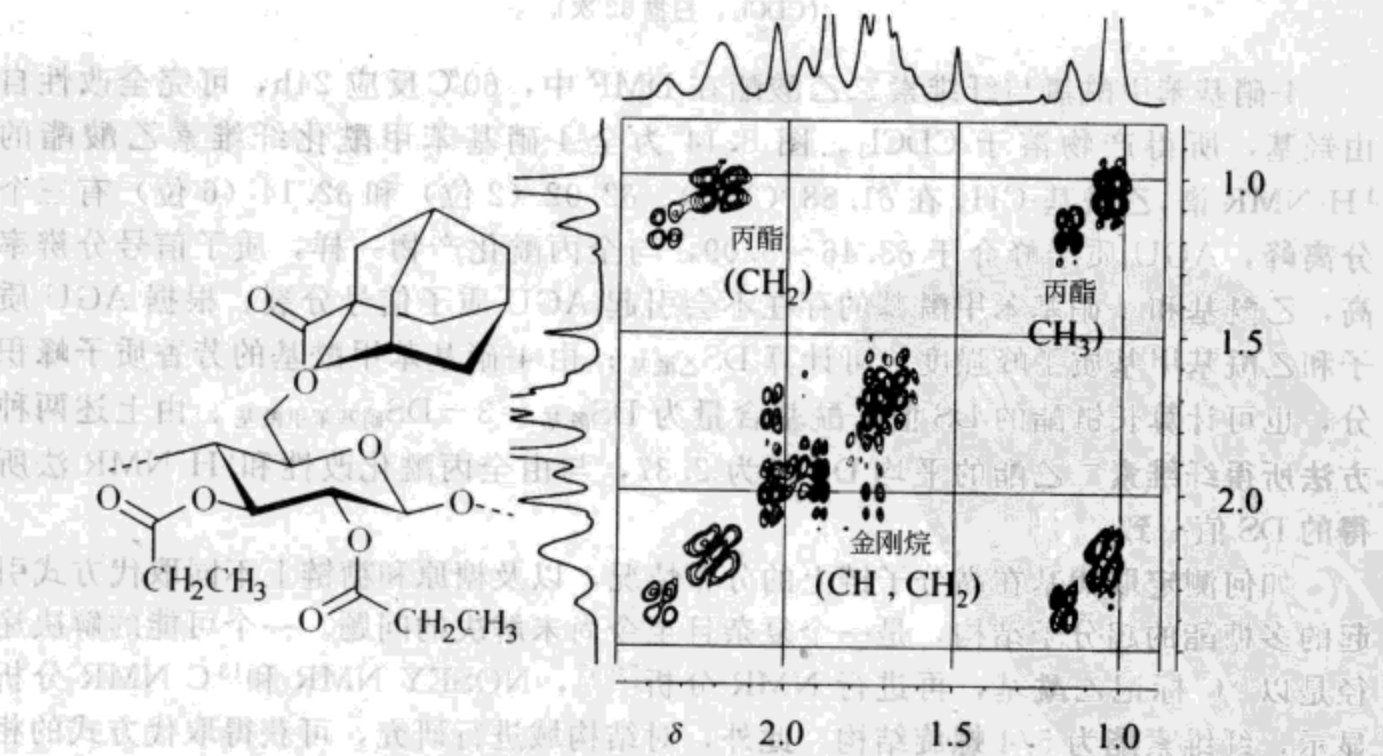


图 8.13 全丙酰化纤维素金刚烷酸酯的 ^1H ， ^1H -COSY NMR 谱图
(图中标出了取代基质子信号； CDCl_3 ，扫描 32 次)

对于具有其他脂肪基（信号在 $\delta 0.8 \sim 3.2$ 区间）的多糖酯，如脂肪酸酯，由于不同酯基质子峰发生重叠，全丙酰化衍生物的 ^1H NMR 谱难以解析，因此，需采用氘代乙酰化反应或者全 4-硝基苯甲酰化反应。以 4-硝基苯甲酰氯在 Py 中对多糖酯进行硝基苯甲酰化反应，产物 ^1H NMR 谱仅在 $\delta 7.5 \sim 9.0$ 附近有信号。

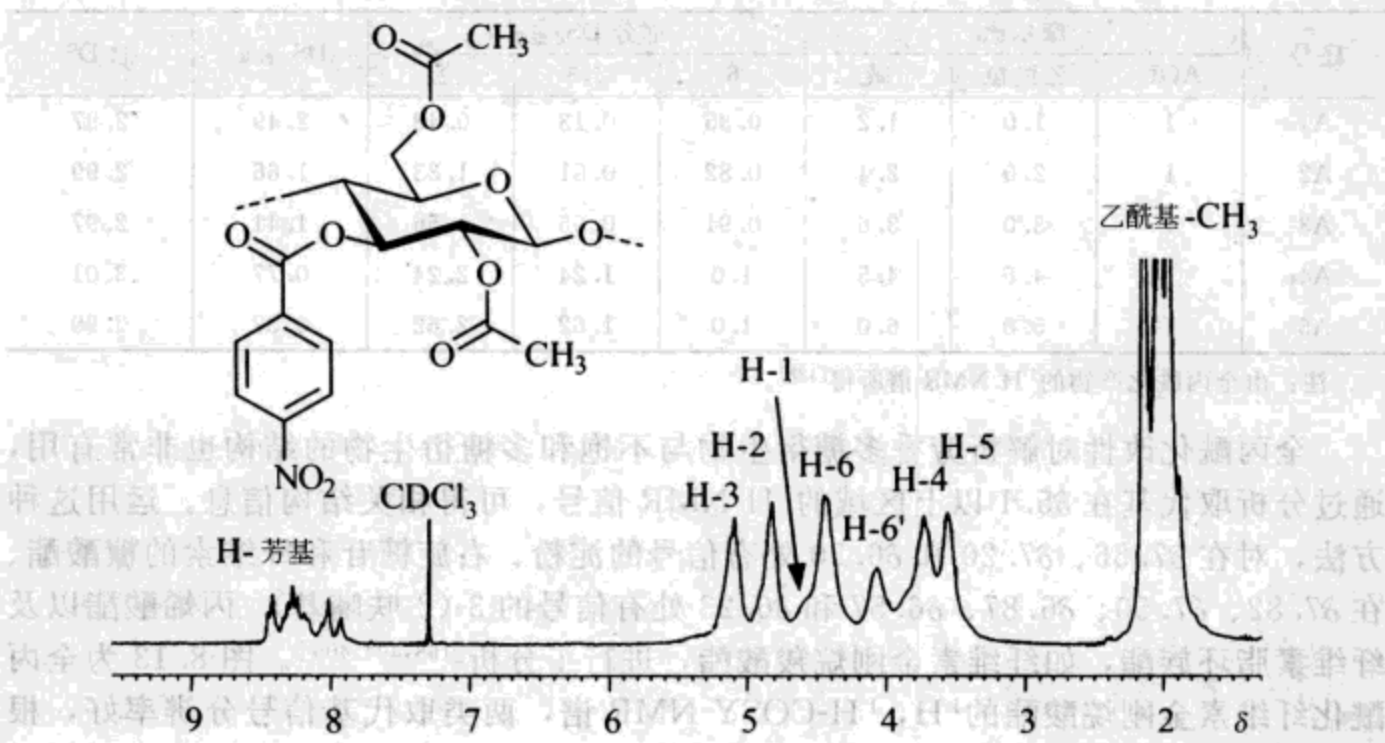


图 8.14 全-4-硝基苯甲酰化纤维素乙酸酯的 ^1H NMR 谱图
(CDCl_3 ，扫描 32 次)

4-硝基苯甲酰氯与纤维素二乙酸酯在 DMF 中， 60°C 反应 24h，可完全改性自由羟基，所得产物溶于 CDCl_3 。图 8.14 为全-4-硝基苯甲酰化纤维素乙酸酯的 ^1H NMR 谱，乙酰基- CH_3 在 $\delta 1.88$ （3 位）、 $\delta 2.02$ （2 位）和 $\delta 2.14$ （6 位）有三个分离峰，AGU 质子峰介于 $\delta 3.46 \sim 5.09$ ，与全丙酰化产物一样，质子信号分辨率高，乙酰基和 4-硝基苯甲酰基的存在不会引起 AGU 质子信号分裂。根据 AGU 质子和乙酰基甲基质子峰强度，可计算 $\text{DS}_{\text{乙酰基}}$ ；由 4-硝基苯甲酰基的芳香质子峰积分，也可计算长链酯的 DS 值，酰基含量为 $\text{DS}_{\text{酰基}} = 3 - \text{DS}_{\text{硝基苯甲酰基}}$ 。由上述两种方法所得纤维素二乙酯的平均 DS 值为 2.37，与由全丙酰化改性和 ^1H NMR 法所得的 DS 值一致。

如何测定取代基在分子链上的分布情况，以及糖原和糖链上不同取代方式引起的多糖酯的超分子结构，是一个复杂且至今尚未解决的问题。一个可能的解决途径是以 ^{13}C 标记乙酰基，再进行 NMR 分析^[399]，NOSEY NMR 和 ^{13}C NMR 分析显示，纤维素酯为 5/4 螺旋结构。此外，对结构域进行研究，可获得取代方式的相关信息^[406,407]。对酶解纤维素酯进行 NMR 分析，可得到聚合物上八种不同 RU 的组成情况^[408]。采用这种技术，重组了 DS 0.64 的纤维素乙酸酯分子链上吡喃葡萄糖的分布情况，如图 8.15 所示^[398]。

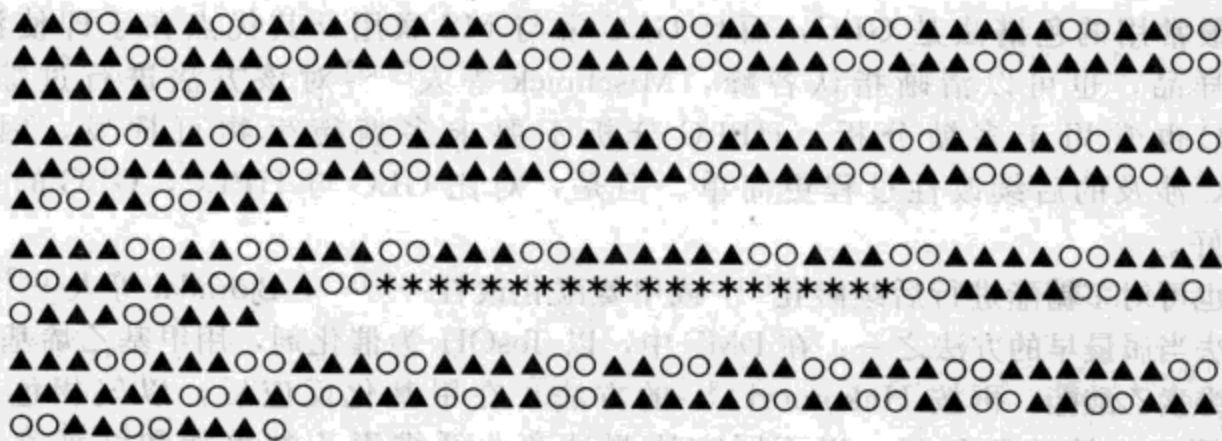


图 8.15 不同取代葡萄糖原在水溶性纤维素乙酸酯 (DS 0.64, DP 96) 高分子链上的分布情况 (给出了 3 个高分子链: ○ 未取代糖原; ▲ 单取代糖原; * 高度取代糖原^[398])

8.4.2 色谱技术

对水解不稳定多糖酯进行后续改性和降解, 再进行色谱分析, 是 NMR 法的一种重要替代方法, 通过上述分析, 得到与起始多糖酯相反的取代方式, 分析流程如图 8.16 所示。

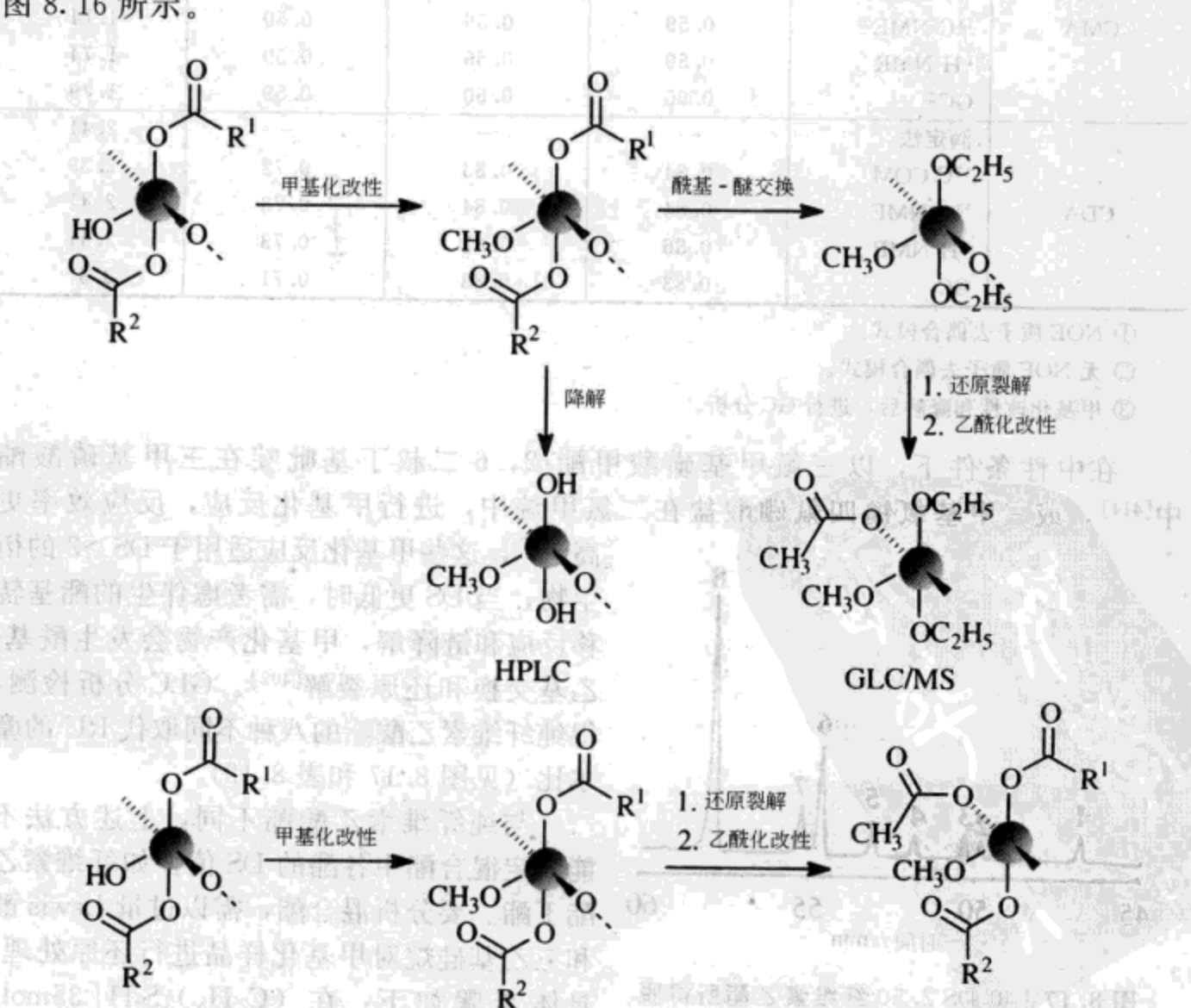


图 8.16 在后续改性后以色谱法分析多糖酯的流程

最常用的色谱法是 GLC，而且 GLC 常与 MS 联用，其优点在于即使没有标准样品，也可以清晰指认各峰，Mischnick 等人^[409]对该方法进行过综述。HPLC 也常用于多糖分析，HPLC 分析不要求多糖衍生物可挥发，因此，HPLC 涉及的后续改性过程更简单。但是，对比 GLC 与 HPLC，GLC 的分辨率更好。

也可对多糖酯进行后续醚化^[410]或甲氨酰化改性^[411,412]，Björndal 等人^[413]开发的方法当属最早的方法之一：在 DMF 中，以 TosOH 为催化剂，用甲基乙烯基醚改性纤维素乙酸酯，再按 Hakomori^[81]的方法，在甲基化反应后，以气相色谱分离检测无水糖醇乙酸酯。以不同方法测试商业纤维素乙酸单酯和纤维素二酯，色谱法所得结构与¹³C NMR 和¹H NMR 法的结果一致（见表 8.11^[395]）。

表 8.11 皂化后进行化学滴定分析（滴定法）、¹³C NMR 法、¹H NMR 法和 GC 法分析纤维素单乙酸酯（CMA）和纤维素二乙酸酯（CDA）所得的酯基分布情况^[395]

样 品	方 法	不同位置的 DS			总 DS
		2	3	6	
CMA	滴定法	—	—	—	1.75
	¹³ C COM ^①	0.60	0.55	0.58	1.73
	¹³ C NME ^②	0.59	0.56	0.59	1.74
	¹ H NMR	0.59	0.56	0.59	1.74
	GC ^③	0.60	0.60	0.59	1.79
CDA	滴定法	—	—	—	2.41
	¹³ C COM	0.84	0.83	0.72	2.39
	¹³ C NME	0.84	0.84	0.73	2.41
	¹ H NMR	0.86	0.82	0.73	2.41
	GC	0.83	0.83	0.71	2.37

- ① NOE 质子去偶合模式。
- ② 无 NOE 质子去偶合模式。
- ③ 甲基化改性和降解后，进行 GC 分析。

在中性条件下，以三氟甲基磺酸甲酯/2, 6-二叔丁基吡啶在三甲基磷酸酯中^[414]，或三甲基氧鎗四氟硼酸盐在二氯甲烷中，进行甲基化反应，反应效率更高^[415]，这些甲基化反应适用于 DS>2 的衍生物，当 DS 更低时，需考虑伴生的酯基转移反应和链降解，甲基化产物会发生酰基-乙基交换和还原裂解^[402]。GLC 分析检测，得纯纤维素乙酸酯的八种不同取代 RU 的摩尔比（见图 8.17 和表 8.12）。

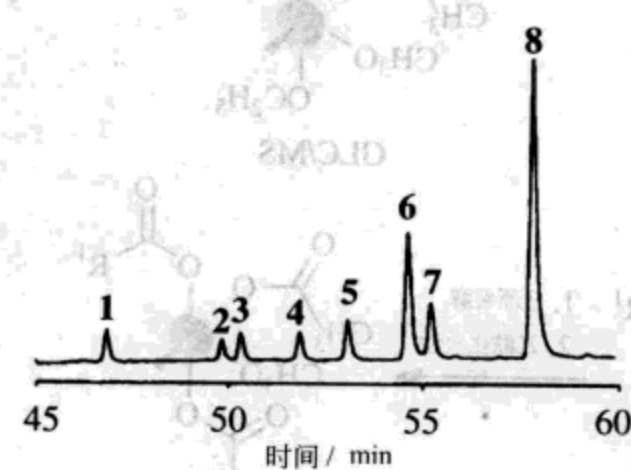


图 8.17 由 DS 2.50 纤维素乙酯所得脱水醛醇乙酸酯的 GLC 图^[402]

与纯纤维素乙酸酯不同，上述方法不能测定混合酯中各酯的 DS 值，如纤维素乙酯丁酯。要分析混合酯，需以过量 Lewis 酸和三乙基硅烷对甲基化样品进行还原处理，具体步骤如下：在 (C₂H₅)₃SiH [35mol/(molAGU)]、CH₃SO₃Si(CH₃)₃ [70mol/

(molAGU)] 和 $\text{BF}_3^+ \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ [17mol/(molAGU)] 存在下, 在室温下还原裂解甲基化混合酯 7 天, 将所有酰基残基全部还原为烷基醚, 以乙酸酐/1-甲基咪唑对裂解物进行乙酰化改性后, 再以 GLC/CI-MS 和 EI-MS 分析产物, Restek RTX-200 柱分离, 得 27 个分离峰, 归属如表 8.13 所示。

表 8.12 纤维素乙酯 (DS 2.50) 的八种不同取代 RU 的脱水醛醇乙酸酯^[402]

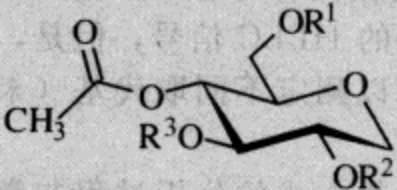
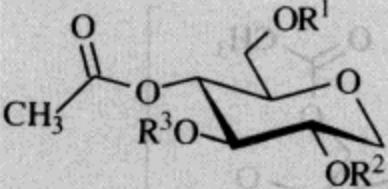
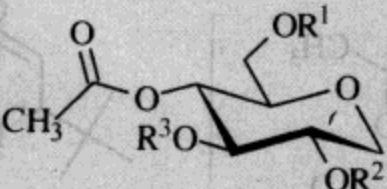
	R ¹	R ²	R ³
1(见图 8.17)	CH ₃	CH ₃	CH ₃
2	CH ₃	C ₂ H ₅	CH ₃
3	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
4	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃
5	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
6	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₃
7	C ₂ H ₅	CH ₃	C ₂ H ₅
8	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅

表 8.13 纤维素乙酸丙酸酯在全甲基化、还原裂解和乙酰化改性后所得醛醇乙酯的气-液色谱峰的归属 (随保留时间增加)^[402]

	R ²	R ³	R ⁶	摩尔质量 (g/mol)		R ²	R ³	R ⁶	摩尔质量 (g/mol)
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	248		C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	CH ₃	290
	CH ₃	C ₂ H ₅	CH ₃	262		C ₃ H ₇	CH ₃	C ₂ H ₅	290
	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	262		C ₂ H ₅	CH ₃	C ₃ H ₇	290
	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃	262		C ₂ H ₅	C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	304
	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	276		C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₃ H ₇	304
	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₃	276		C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	304
	C ₂ H ₅	CH ₃	C ₂ H ₅	276		CH ₃	C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	304
	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	290		C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	CH ₃	304
	CH ₃	C ₃ H ₇	CH ₃	276		C ₃ H ₇	CH ₃	C ₃ H ₇	304
	CH ₃	CH ₃	C ₃ H ₇	276		CH ₃	C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	318
	C ₃ H ₇	CH ₃	CH ₃	276		C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	318
	CH ₃	C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	290		C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	C ₃ H ₇	318
	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₃ H ₇	290		C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	332
	C ₂ H ₅	C ₃ H ₇	CH ₃	290					

也可通过碱性条件下的甲基化改性, 对多糖硫酸半酯进行结构分析, 但是, 对于反式-1,2-二醇结构 [如 (1→4) 连接葡聚糖中所存在的], 由于形成环氧乙烷中间体, 硫酸酯基会发生分子内亲核取代, 需通过优化反应条件对该副反应加以控制^[416]。2-硫酸酯的糖苷键的酸不稳定性明显增强, 采用还原性水解, 可直接生成葡萄糖醇, 使降解生成的葡萄糖残基更稳定^[417,418]。在完全水解、还原和乙酰化

改性后，得到部分甲基化的葡萄糖醇乙酸酯，可用 GLC 分析检测该酯。采用上述方法，也可以分析其他多糖酯，包括淀粉酯，如淀粉乙酸酯和淀粉苯甲酸酯^[419]。

也可通过甲基化改性、控制性降解和 HPLC 检测，进行多糖酯的结构分析，其优点在于可对改性糖原的水溶液进行分析，使得多糖的后续改性大大简化。通过采用三氟甲基磺酸甲酯全甲基化改性、TFA 酸降解（类似方法如图 3.14^[188]所示）、RP-18 柱分离甲基葡萄糖和 HPLC 检测，甲基葡萄糖具有与起始多糖酯相反的取代方式。很容易指认具有不同取代方式的改性糖原的 HPLC 信号，但是，定量分析受到低分辨率的限制；不过，运用这种方法，可以测定不同取代基（未取代、单取代、二取代和三取代葡萄糖）的含量。

如上面 NMR 部分所介绍，酯基在分子链上的取代方式的分析过程非常复杂，一个可能的途径包括后续全甲基化反应改性、碱性条件下脱乙酰氧代甲基化改性、随机裂解、以甲基碘-*d*₃ 进行再甲基化改性和 FAB-MS 分析等步骤，具体流程如图 8.18 所示，对比检验数据和乙酰基随机分布的计算结果，可了解酯基在糖链上的分布均一性^[420]。甲基化不完全、迁移反应以及甲基化过程中主要官能团裂解，均会导致结果错误。

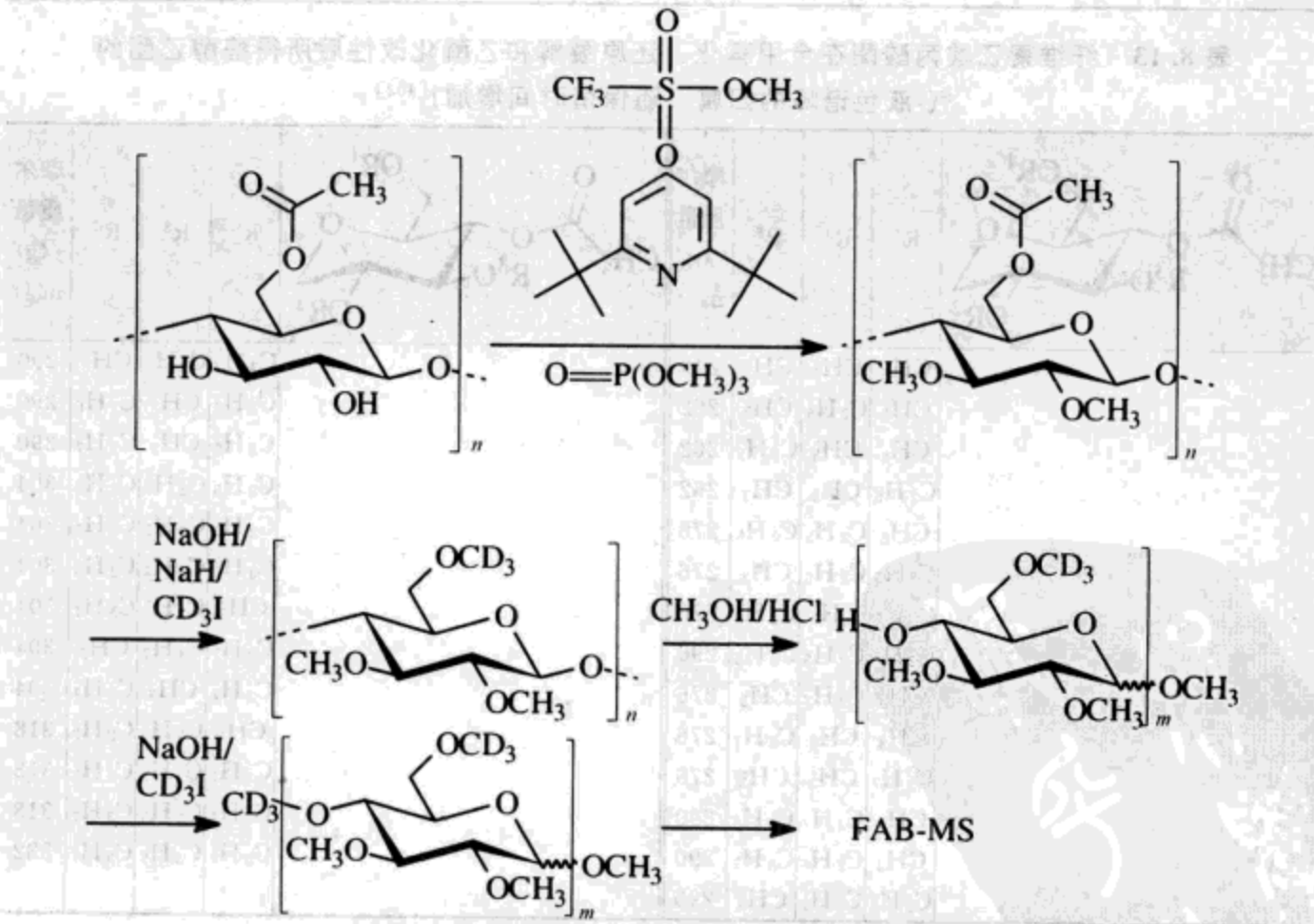


图 8.18 在全甲基化、全氘代甲基化和随机裂解后用 FAB-MS 分析纤维素乙酸酯结构的流程

本章详细介绍了如何分析酯基在 RU 上的分布情况，下一章将介绍具有设计取代方式的多糖酯的合成途径。

通过化学和区域选择性反应以及选择性脱酰基化反应,有许多方法可用于制备具有设计取代方式的多糖酯,基团保护技术和所谓的介质控制反应可实现区域选择性改性,化学选择性改性的运用相对较少,但是,对含糖醛酸的聚合物(如海藻酸盐)以及脱氧氨基多糖(甲壳素和壳聚糖),化学选择性改性则非常有意义。

5.1.2 节介绍了糖醛酸单元的选择性酯化反应, 其中, 多糖首先被转化为酸式, 再转化为四丁基胺盐, 四丁基胺盐与长链烷基溴化物在 DMSO 中均相反应, 得相应多糖酯 (见图 5.5 [5])。

壳聚糖可在不同溶剂中进行定制的改性反应 (见图 4.6), 在甲醇和乙酸的混合物中, 可以制备多种有价值的 *N*-酰基壳聚糖衍生物 (见图 9.1^[423,424])。

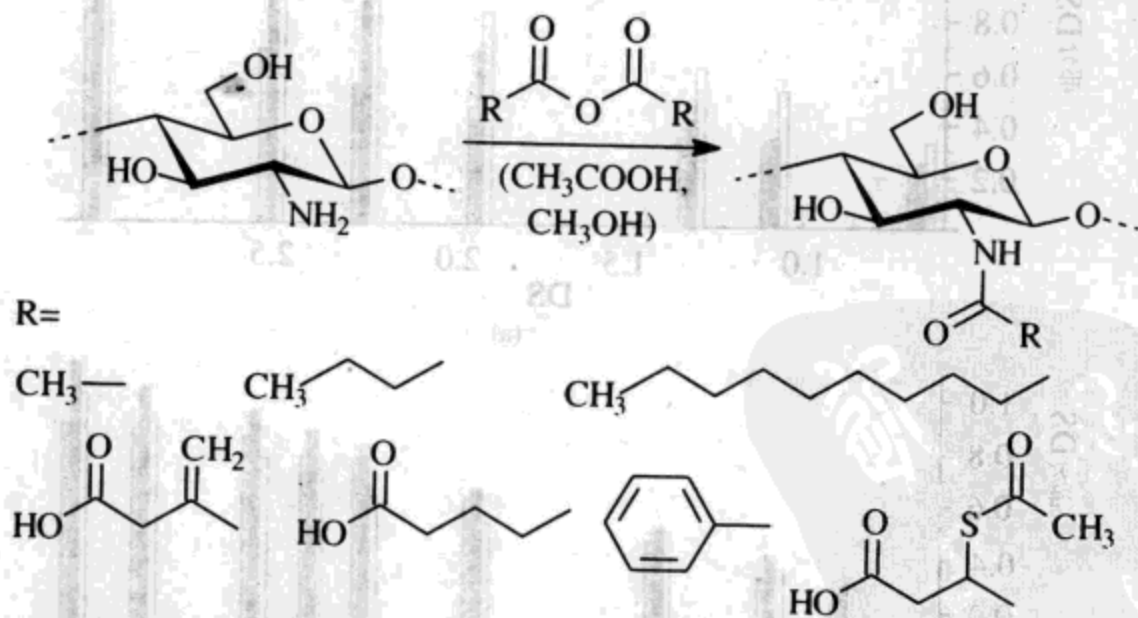


图 9.1 壳聚糖与羧酸酐在乙酸/甲醇中反应生成 N-酰基壳聚糖衍生物

对仅含羟基的多糖，伯羟基优先反应，在引入大的羧酸酯基时，尤其如此。

由于存在电子效应，与糖苷键毗邻的羟基反应活性更高，因此，(1→4)和(1→3)连接的多糖，如凝胶多糖、淀粉和纤维素，酯化反应速度通常为 $6\text{-OH} > 2\text{-OH} > 3(4)\text{-OH}$ 。不含伯羟基的多糖 2 位反应速度最快，右旋糖苷酰基化反应中羟基反应活性为： $2\text{-OH} > 4\text{-OH} > 3\text{-OH}$ 。下面将对制备具有设计酯化方式的多糖酯的反应途径进行介绍。

9.1 选择性脱酰基化反应

目前已对纤维素乙酸酯的选择性脱酰基化反应进行过广泛研究，因为部分脱乙酰的纤维素乙酸酯（如纤维素二乙酯）具有不同溶解性（对比表 8.1，第 8 章），便于后续处理。多糖酯的性质在多大程度上受取代基在 RU 上的分布方式控制，至今还不清楚，聚合物性质同时也可能受取代基在 高分子链上分布情况的影响，但是，脱酰基化反应仅能制备在 RU 上具有设计取代方式的多糖酯。具有设计取代方式的多糖乙酸酯是后续改性的重要中间体，（在充分皂化后）可用于制备具有相反取代方式的衍生物，通常直接对纤维素三乙酸酯进行皂化（见第 4 章）。采用 H_2SO_4 溶液水解，可去除能后续再酯化的伯羟基^[425,426]。

在不同条件下水解，可得到具有不同改性方式的产物^[151]。酸解纤维素三乙酯，得 DS 低于 2.2 的产物，6 位和 2 位的脱乙酰化反应速度相当，如果继续降解，2 位脱乙酰化反应更明显，表明 6 位乙酰基最稳定^[89,427]，3 位脱乙酰化速度最快 [见图 9.2(a)]。如果在纤维素完全改性后，直接用乙酸/硫酸水解，会有完全不同的结果：在所有 DS 范围内，2、3、6 位的反应速度相当 [见图 9.2(b)]，产物 AGU 上的乙酰基分布均匀。

在碱性水解条件下，2 位脱酰化反应的优先性更明显。在 DMSO 中，肼^[89]或

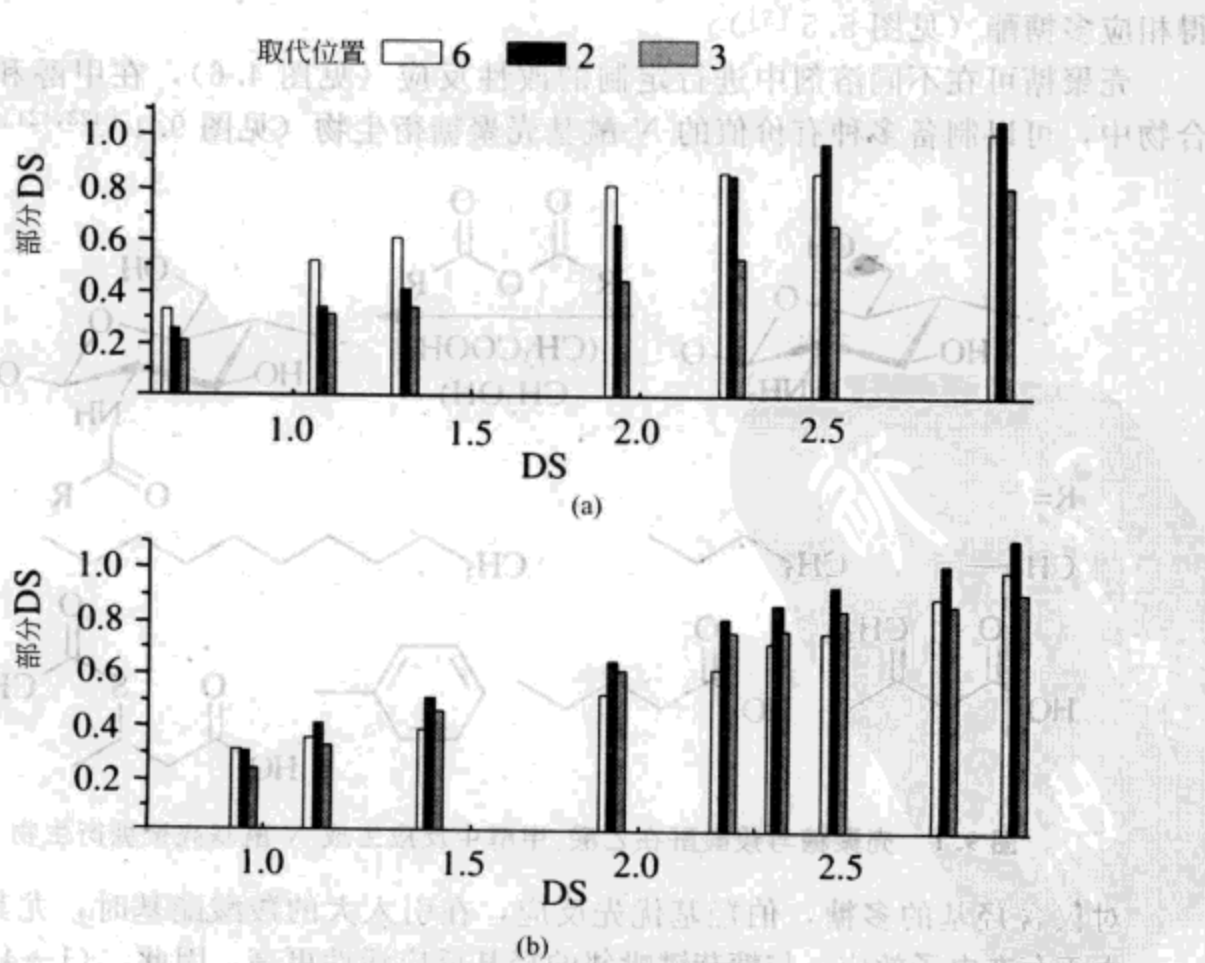


图 9.2 纤维素乙酸酯总 DS 和 2,3,6 部分 DS 值的分布情况^[151]
[样品制备途径：(a) 纤维素三乙酯酸解脱酯化反应；(b) 在 *N*-乙基吡啶氯化物中乙酰化反应后，直接酸解脱酯化。图由文献 [151] 重制]

胺^[360]可脱除纤维素乙酸酯的乙酰基。在三元混合物 DMSO/水/脂肪胺（如二甲胺或六甲基二胺）中反应，易于调节 6 位脱酰基反应的选择性，产物 6 位的 DS 比 2、3 位更高，结果如表 9.1^[360]所示。

表 9.1 80℃ 纤维素三乙酯在含胺介质中的均相脱酰基化反应^[360]

胺	摩尔比		时间 /h	DS		
	AGU	胺		2	3	6
NH ₂ —(CH ₂) ₆ —NH ₂	1	2.3	2.5	0.80	0.80	1.00
NH ₂ —(CH ₂) ₆ —NH ₂	1	2.3	4.5	0.65	0.75	1.00
NH ₂ —(CH ₂) ₆ —NH ₂	1	2.3	9.0	0.45	0.55	0.90
NH ₂ —(CH ₂) ₆ —NH ₂	1	2.3	14.0	0.20	0.45	0.85
NH ₂ —(CH ₂) ₆ —NH ₂	1	2.3	24.0	0.05	0.10	0.60
HN(CH ₃) ₂	1	4.5	5.0	0.75	0.80	1.00
HN(CH ₃) ₂	1	4.5	11.0	0.50	0.50	1.00
HN(CH ₃) ₂	1	4.5	15.0	0.35	0.50	0.95
HN(CH ₃) ₂	1	4.5	20.0	0.30	0.40	0.90
HN(CH ₃) ₂	1	4.5	24.0	0.20	0.30	0.70

具有设计取代方式的纤维素乙酸酯已用于制备纤维素硫酸半酯，优先发生在仲羟基的反应对产物性质（如溶解性、成膜性、分离特性，尤其是人血液相容性）具有明显影响^[360]。

目前也制备了具有设计结构的纤维素乙酸酯与纤维素磷酸酯的混合酯^[428]，磷酸酯基主要位于 2 和 3 位的产物可按以下途径制备：在 DMSO 水溶液中，二甲胺与纤维素三酯在 20~100℃ 反应 0.5~72h，进行脱乙酰化反应，DS 2.90 纤维素乙酸酯的脱乙酰化产物总 DS 0.85，部分 DS 分别为 0.05（2 位）、0.15（3 位）、0.7（6 位）；在三丁基胺存在下，脱乙酰化产物与多聚磷酸在 DMF 中反应，得纤维素乙酸磷酸混合酯，产物 DS_{乙酰基} 0.83、DS_{磷酸酯基} 1.20；继续以乙醇化 NaOH 对该混合酯进行脱乙酰化处理，得 DS_{磷酸酯基} 0.96 的纤维素磷酸酯（仲位 DS_{磷酸酯基} 0.77，伯位 DS_{磷酸酯基} 0.19）。

如 5.1.4 节所介绍，在改性溶剂中，通过生成水解不稳定性中间体，可实现仲羟基的优先改性，该反应的优点在于不用分离反应中间体，且中间体可在后处理中脱除。在 N₂O₄/DMF 中，以 SO₃-Py 均相改性纤维素，可得 2、3 位优先反应的纤维素硫酸半酯（纤维素亚硝酸酯为反应中间体^[192]）。通过改性纤维素三氟乙酸酯^[188,429]和水解中间体酯基，也可得到 2、3 位优先反应的纤维素硫酸半酯。

采用纯化的乙酰酯酶，可制备选择性取代的低 DS 纤维素乙酸酯。乙酰酯酶对乙酰基的脱除具有选择性，糖酯酶家族 1 的乙酰酯酶可选择性地切断 2 位和 3 位酯基，糖酯酶家族 5 的乙酰酯酶对 2 位乙酰基、糖酯酶家族 4 的乙酰酯酶对 3 位乙酰基具有选择性^[430,431]。以糖酯酶家族 1 的纯 *Aspergillus niger* 乙酰酯酶处理纤维素乙酸酯（DS 0.9 和 DS 1.2），脱乙酰化反应沿纤维素链有规律地进行^[432]；在结构分析前，用制备凝胶排阻色谱分离酶解所得片断。

9.2 基团保护技术

以大的醚基，如三苯甲基或硅基醚，对伯羟基进行选择性保护，可实现多糖后

续选择性改性。但是, 目前还无法直接对仲羟基进行选择保护。

9.2.1 三苯甲基化保护技术

三苯甲基是最早也是最便宜的多糖伯羟基的保护基之一, 通过以下途径, 很容易实现对伯羟基的保护: 将多糖悬浮在 Py 中, 三苯基氯 $[3\text{mol}/(\text{molAGU})]$ 与多糖在 80°C 反应 $24\sim 48\text{h}$ 。大部分多糖在反应过程中溶解, 但甲壳素是一个例外, 甲壳素的伯羟基很难被完全三苯甲基化, 只有在非常苛刻的反应条件下 $[80^\circ\text{C}$, 72h , $10\text{mol}/(\text{molAGU})$, DMAP 为催化剂], 才能获得 DS 0.75 的不溶衍生物。在 DMAc/LiCl 中, 可对纤维素进行均相三苯甲基化改性。多糖三苯甲基醚通常可溶于 DMSO、Py 和 DMF, 在这些溶剂中进行的酯化反应无副反应伴生。在二氯甲烷中以气态 HCl^[398] 或在 THF 中以 HCl 水溶液^[433] 可脱除保护基; 在 HBr/乙酸中脱保护效果更好^[403]。

反应流程如图 9.3 中 2,3-二-O-乙酰基-6-单-O-丙酰基纤维素的合成过程所示,

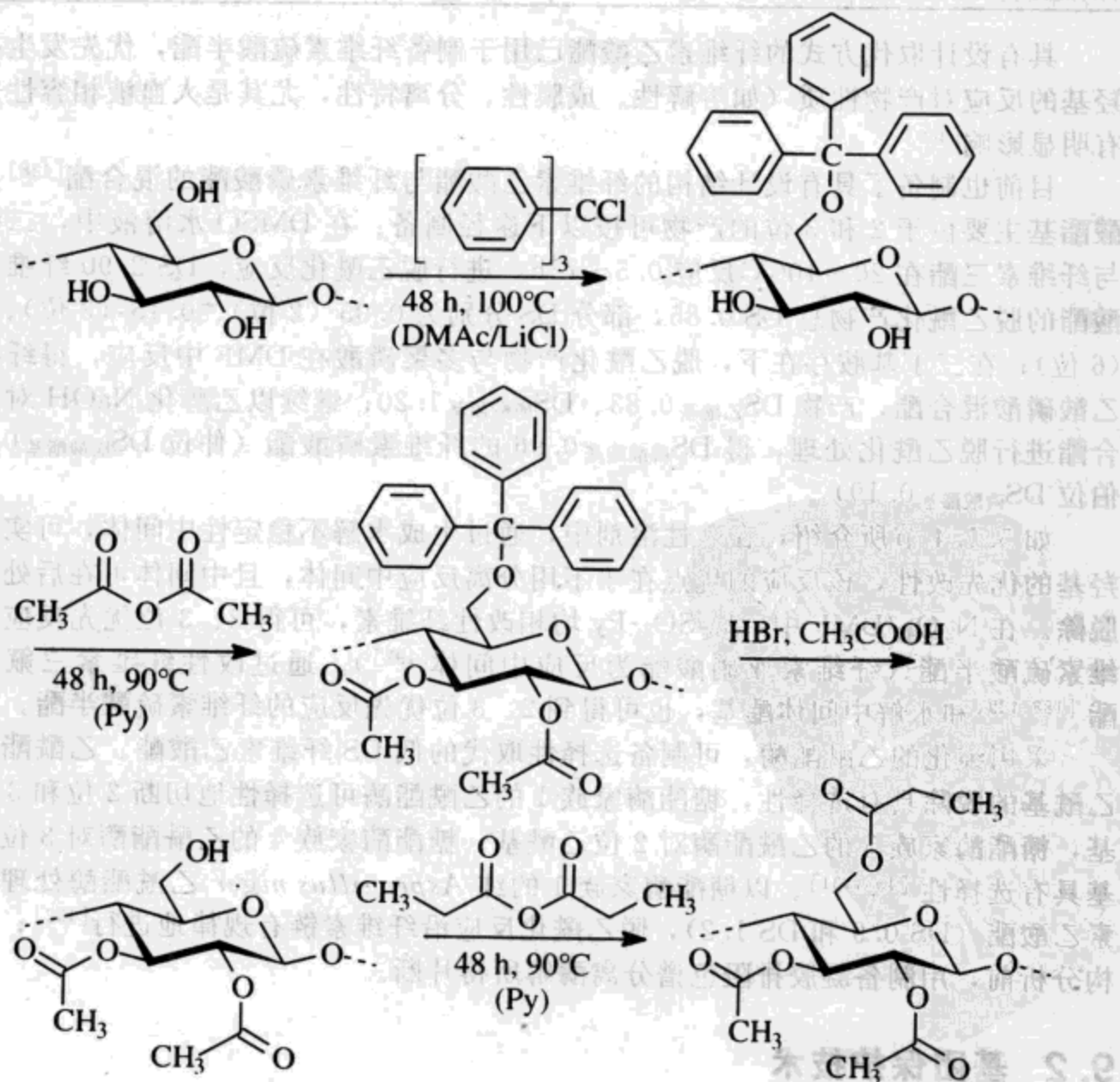


图 9.3 通过 6-单-O-三苯甲基纤维素对纤维素进行选择性酰基化改性^[403]

6-*O*-三苯甲基与乙酸酐在 Py 中反应, 得 2,3-二-*O*-乙酰基-6-*O*-三苯甲基纤维素, HBr/乙酸可选择性脱除三苯甲基^[403], 以丙酸酐对脱保护的羟基进行酰基化, 最后得完全改性的 2,3-二-*O*-乙酰基-6-单-*O*-丙酰基纤维素。如果先进行丙酰化反应, 则得具有相反取代方式的产物, 即 6-单-*O*-乙酰基-2,3-二-*O*-丙酰基纤维素。上述处理对解析纤维素酯的 NMR 谱图非常有帮助^[403]。

通过比较纤维素三酯和选择性取代的纤维素酯, 如纤维素丙酰二乙酯、丁酰二乙酯、乙酰二丙酯、乙酰二丁酯, 对纤维素混合酯的热学性能进行研究, DSC 测试显示, 熔点与仲位酰基的长度存在相关性^[434]。

选择性改性的纤维素酯可能形成晶体, 采用原子力显微镜能直接观察单晶图像(见图 9.4^[435]), 2,3-二-*O*-乙酰基-6-单-*O*-丙酰基纤维素和 6-单-*O*-乙酰基-2,3-二-*O*-丙酰基纤维素的厚度分别为 29nm 和 45nm。对比选择性取代的纤维素酯和随机取代的商业纤维素酯在极性溶剂中的动态结构, 发现两者的链构型、溶解性、聚集机理及聚集态结构均存在明显差异^[436,437]。

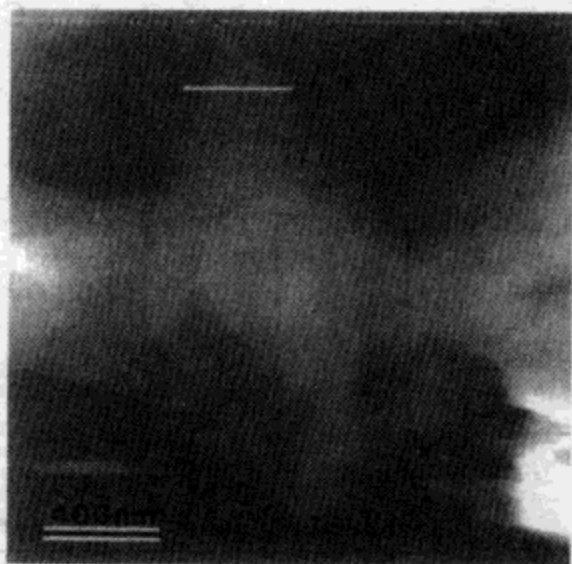


图 9.4 2,3-二-*O*-乙酰基-6-单-*O*-丙酰基纤维素单晶的原子力显微镜图像^[435]

甲氧基取代的三苯甲基保护多糖的效率更高, 如表 9.2 中纤维素在 DMAc/LiCl 中的保护和脱保护情况所示, 保护反应和脱保护反应的速度都明显提高^[438]。鉴于突出的选择性、被保护纤维素的稳定性、三苯甲基脱除反应的选择性和成本, 建议采用 4-单甲氧基三苯甲基氯为保护剂。¹³C NMR 可检测 4-单甲氧基三苯甲基纤维素的纯度(见图 9.5)。在 THF 中, 以 HCl 水溶液处理 7h, 可完全脱除三苯甲基。

表 9.2 纤维素与不同三苯甲基氯的三苯甲基化反应

保 护 基	保护反应			脱保护反应
	时间/h	DS	速度	速度
三苯甲基	4	0.41	1	1
三苯甲基	24	0.92		
三苯甲基	48	1.05		
4-单甲氧基三苯甲基	4	0.96	2	18
4-单甲氧基三苯甲基	24	0.92		
4-单甲氧基三苯甲基	48	0.89		
4,4'-二甲氧基三苯甲基	4	0.97	2×10^5	100
4,4',4''-三甲氧基三苯甲基	4	0.96	6×10^6	590

注: 1. 三苯甲基化反应条件和脱三苯甲基化反应。

2. 脱三苯甲基化反应条件 37% HCl 溶液: THF(体积比) = 1: 25^[438]。

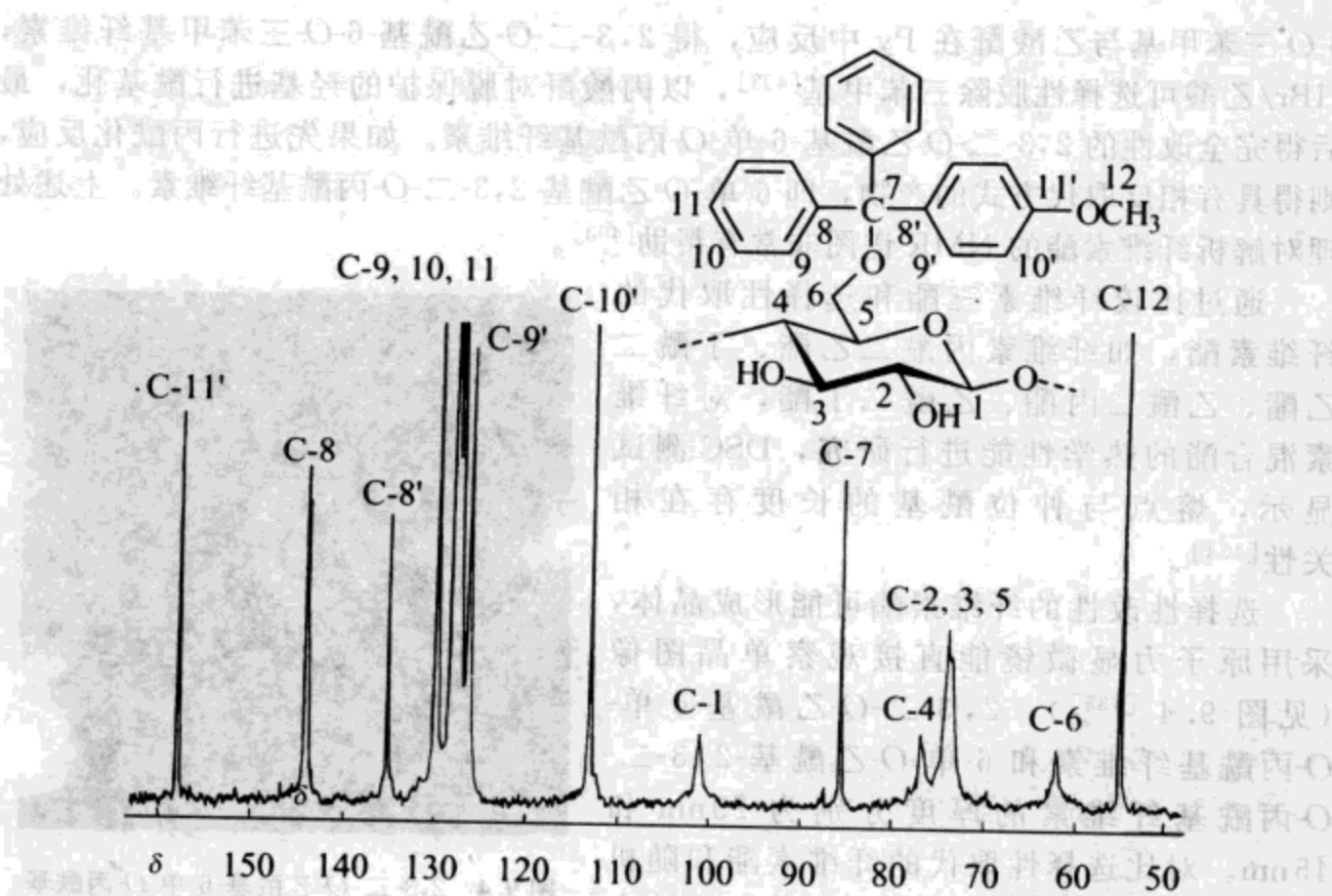


图 9.5 6-单-O-(4-单甲氧基) 三苯甲基纤维素 (DS 1.03) 的¹³C NMR 谱图^[433]

以 SO₃-Py 或 SO₃-DMF 可制备 2,3-O-纤维素硫酸半酯 (见表 9.3^[439]), 这种方法适用于绝大部分带伯羟基的多糖, 包括 (1→3)-葡聚糖, 如凝胶多糖^[422,440]。DMAc/LiCl 和 DMSO 均是淀粉三苯甲基化反应的合适溶剂, 但单程反应的最高三苯甲基取代度仅为 0.77, 只有采用未取代三苯甲基氯为保护剂, 才能将伯羟基完全保护。如果以单甲氧基三苯甲基氯为保护剂, 要制备 DS 1 的产物, 必须再进行一次反应; 与一步三苯甲基化反应相比, 该反应的选择性较低^[441]。

表 9.3 通过 6-O-(4-单甲氧基) 三苯甲基纤维素 (MMTC) 和脱保护技术制备选择性纤维素硫酸半酯^[439]

MMTC	反应条件		产物
	酯化剂	时间/h	DS
0.98	SO ₃ -Py	2.0	0.30
0.98	SO ₃ -DMF	2.5	0.57
0.98	SO ₃ -Py	2.5	0.70
0.98	SO ₃ -Py	4.5	0.99

此外, 酶促酯交换反应也可实现高选择性酯化反应, 如在酶 (*Subtilisin Carlsberg*) 催化下, 再生纤维素、6-O-三苯甲基纤维素和 2,3-O-甲基纤维素与乙烯基丙烯酸酯反应, 当 6-OH 被占据时, 即使 2、3 位有自由羟基, 也没有酶促酯交换反应发生^[442]。

9.2.2 大的有机硅烷保护技术

先以 TBDMS 和 TDMS 保护多糖伯羟基, 再进行酯化, 可获得仲羟基选择性改性的混合多糖衍生物。以 TDMSCl/Py [1.2mol/(molAGU)] 对溶解在 DMSO 中的淀粉进行选择性保护, 20℃ 反应 40h, 当硅烷化试剂大量过量时, 保护基 DS 可达 1.8 (见图 9.6); 再在 THF 中, 以乙酸酐/Py 进行均相乙酰化反应^[443]。

也有报道以 TDMSCl/Py 和 TBDMS-Cl/Py 在 DMAc/LiCl 中对纤维素进行保护 (见表 9.4^[317,444])。TDMS 为保护基时, 反应选择性明显受反应条件的影响, 控制条件可实现选择性改性 (见图 9.7)。

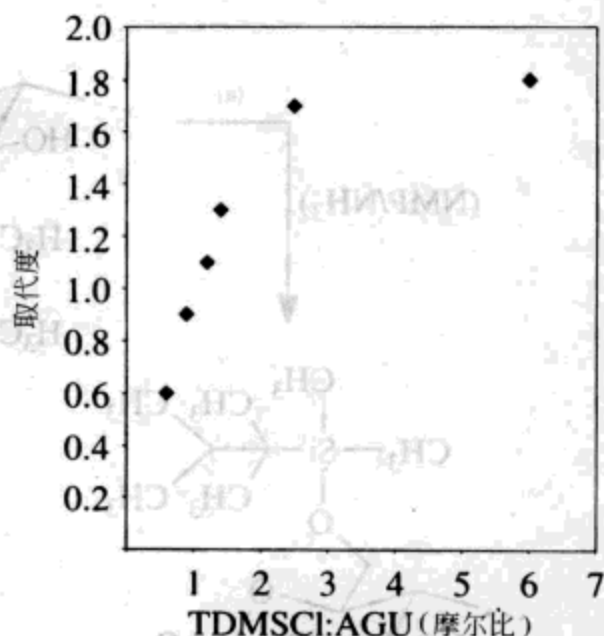


图 9.6 TDMSCl 用量对 DMSO/Py 中硅烷化产物 TDMS-淀粉的 DS 值的影响^[443]

表 9.4 纤维素与 TBDMSCl 和 TDMSCl 在 DMAc/LiCl 中的硅烷化反应

AGU	摩尔比		DS	溶解性		
	TBDMSCl	TDMSCl		DMF	THF	CHCl ₃
1	1.0	—	0.67	+	—	—
1	1.5	—	0.96	+	—	—
1	3.0	—	1.53	—	+	+
1	—	1.0	0.71	+	—	—
1	—	1.5	0.92	+	—	—
1	—	3.0	1.43	—	+	+

注: 反应条件 5% 纤维素, 8% LiCl, 1.1molPy/(mol 氯硅烷)^[444]。

在氨饱和的极性非质子溶剂 (如 NMP) 存在下, -15℃, TDMSCl 与纤维素非均相反应, 得 6 位带 96% 硅烷基的 6-O-TDMS 纤维素。相反, 在咪唑存在下, 纤维素与 TDMSCl 在 DMAc/LiCl 中均相反应, 得到 2, 6-O-TDMS 纤维素; 由此, 可实现对 6 位或同时对 6 位和 2 位的选择性保护。以乙酰氯在叔胺如 TEA 存在下, 或以乙酸酐/Py, 进行后续乙酰化改性, 可得到全乙酰化产物。2,3-二-O-乙酰基-6-单-O-TDMS 纤维素的¹H NMR 和¹H, ¹H-COSY NMR 谱 (见图 9.8) 显示, 反应具有选择性^[445]。

¹H, ¹H-COSY NMR 和¹H, ¹³C-COSY NMR (见图 9.9) 分析表明, 采用衍生化反应、脱硅基反应和后续乙酰化反应, 可制备 6-单-O-乙酰基-2,3-二-O-甲基纤维素、3-单-O-甲基-2, 6-二-O-乙酰基纤维素或 3-单-O-烯丙基-2, 6-二-O-乙酰基纤维素^[446]。

在 THF 中, 以 TBAF 处理多糖硅烷衍生物, 可脱除保护基, 该反应适用于制备选择性改性的混合醚酯, 但是不能对硅烷化多糖酯进行选择性脱保护, 因为 TBAF 在脱除保护基的同时, 酯基也会被脱除。

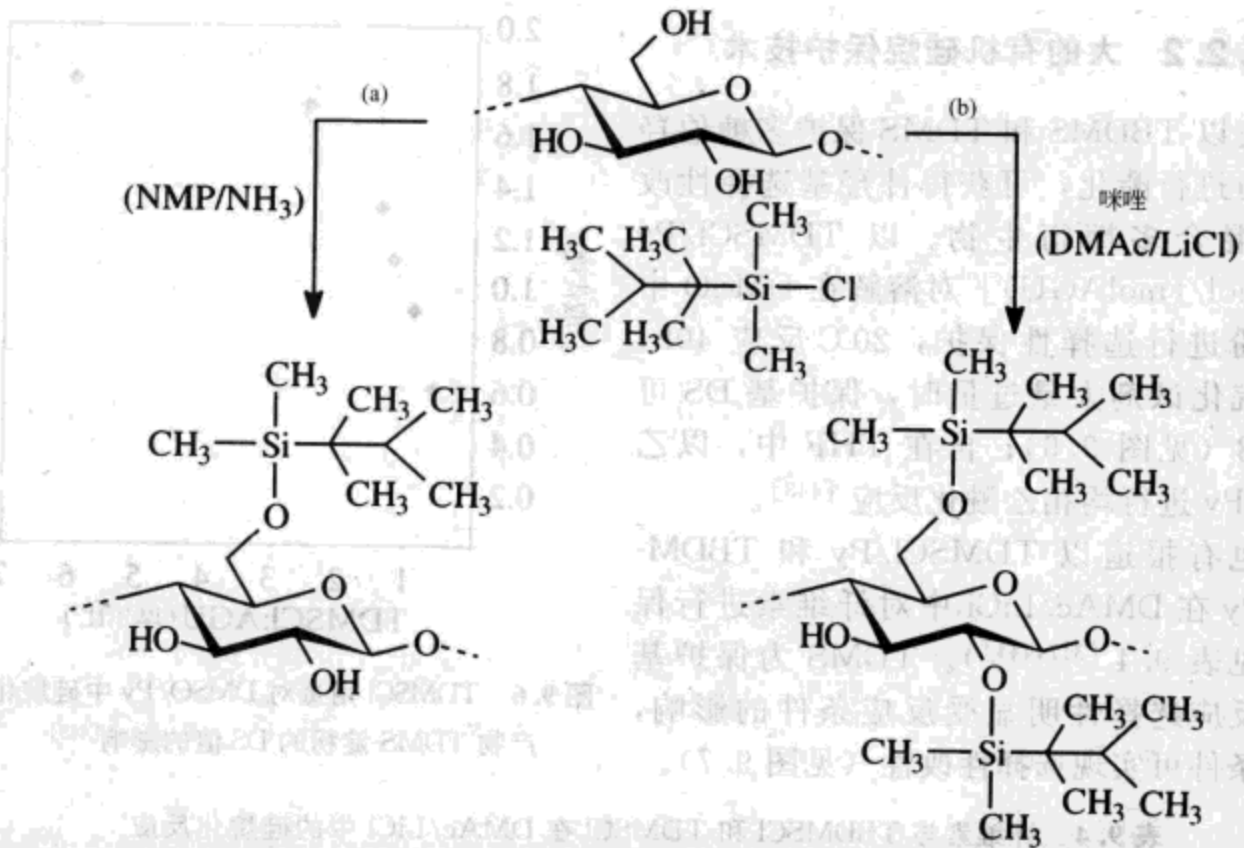


图 9.7 对纤维素 6 位或 2、6 位进行选择保护的非均相硅烷化反应 (a) 和均相硅烷化反应 (b)

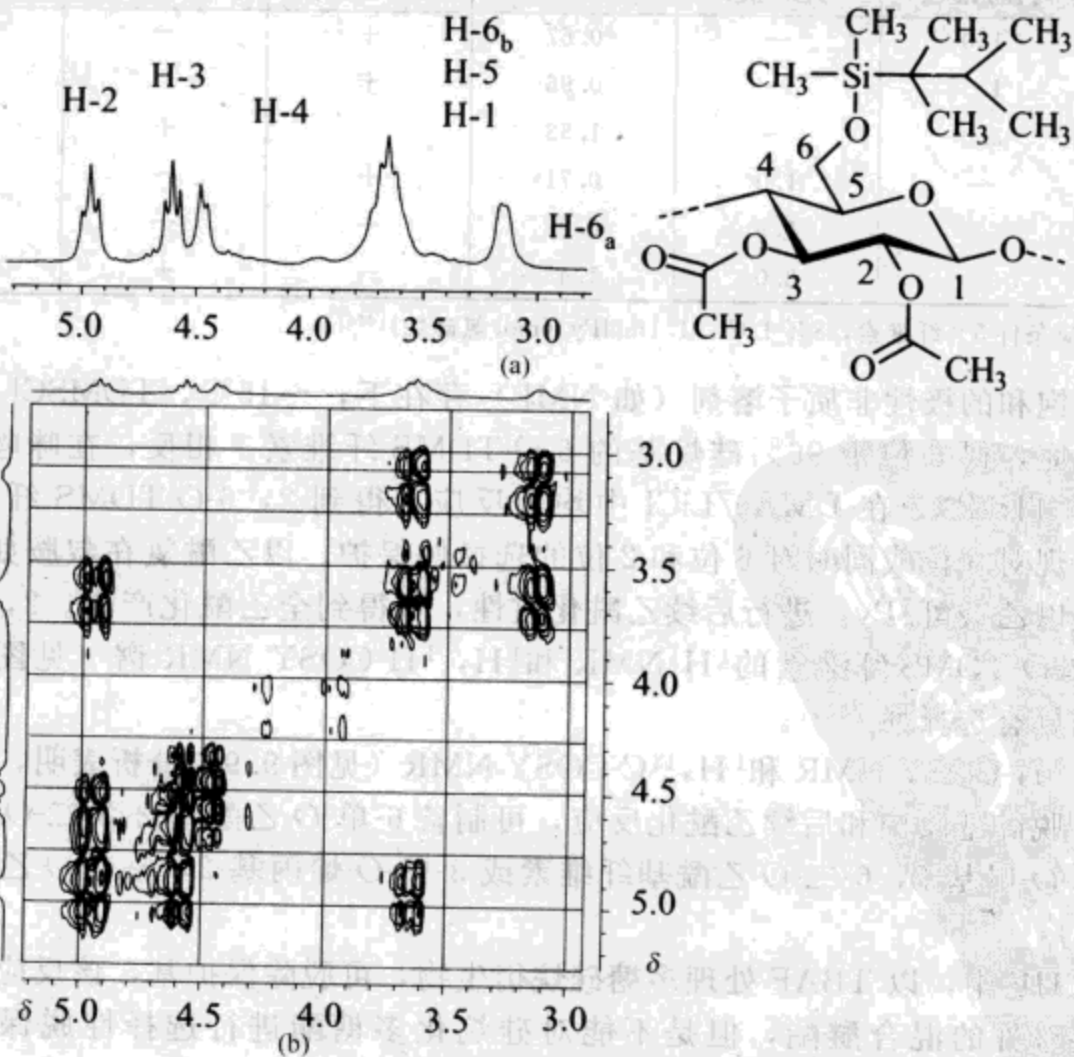


图 9.8 2,3-二-O-乙酰基-6-单-O-TDMS 纤维素的¹H NMR 谱图(a) 和其¹H, ¹H-COSY NMR 谱图(b)

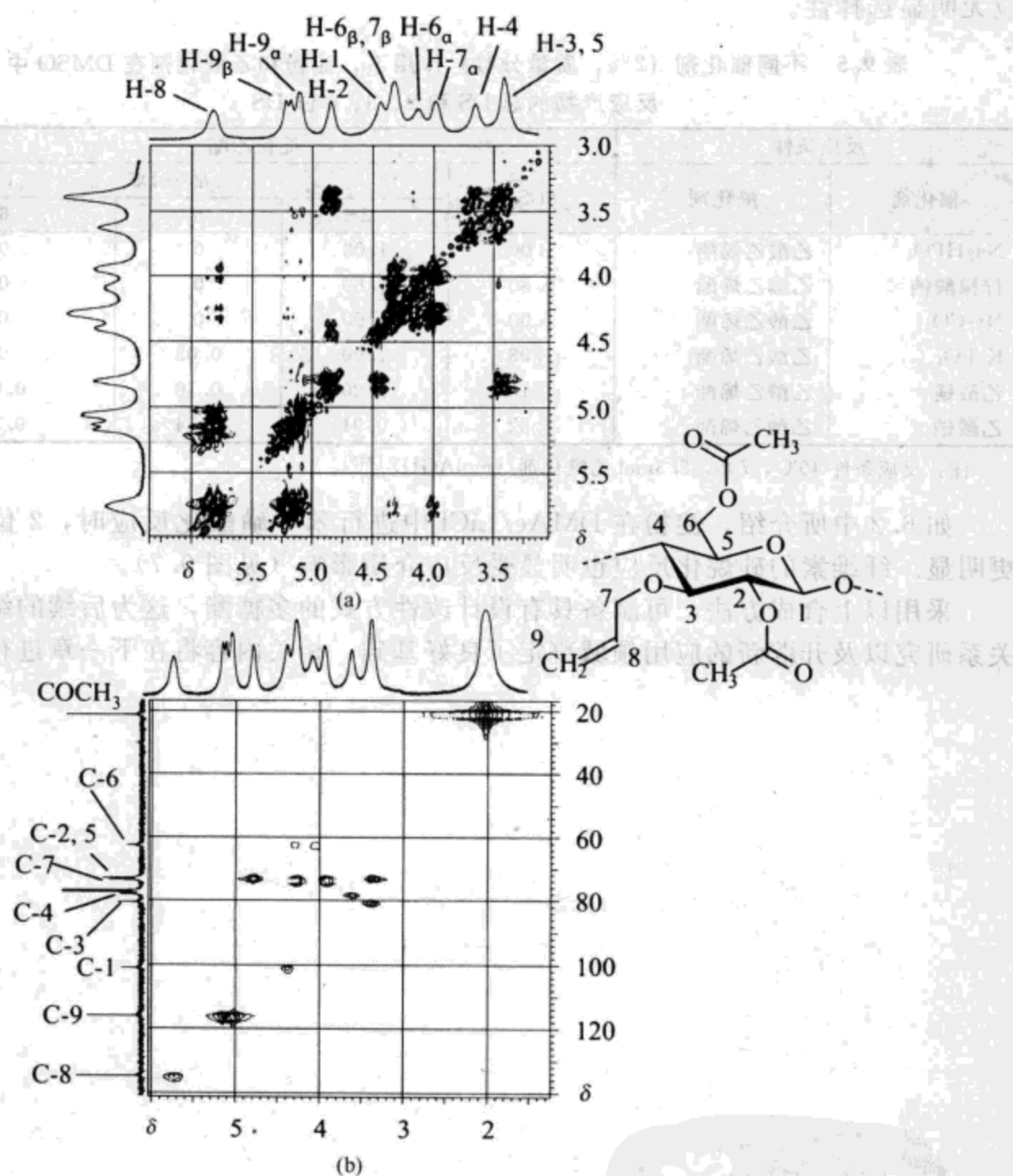


图 9.9 3-单-O-烯丙基-2,6-二-O-乙酰基纤维素的 ^1H , ^1H -COSY NMR 谱图(a) 和其 ^1H , ^{13}C -COSY (b) NMR 谱图^[446]

9.3 介质控制的选择性

淀粉可选择性地在 2 位进行改性, 因为伯羟基与溶剂分子作用, 伯羟基被占据, 失去空间优先反应性, 因此, 这类选择性称为“介质控制”的选择性。在催化剂存在下, 羧酸乙烯酯与淀粉的酯交换反应具有高选择性 (见 5.3.1^[245]), 许多盐可以催化该反应 (见表 9.5)。长链脂肪酸乙烯酯 (如乙烯基月桂酸酯) 和芳基衍生物 (如乙烯基苯甲酸酯, 见表 9.5) 也可进行类似反应。相反, 酸酐参与的反

应无明显选择性。

表 9.5 不同催化剂 (2%, 质量分数) 作用下, 淀粉和乙酰化剂在 DMSO 中反应产物的总 DS 和 2、3、6 位 DS

反应条件		淀粉乙酰			
催化剂	酰化剂	DS	部分 DS		
			2	3	6
Na ₂ HPO ₄	乙酸乙烯酯	1.00	1.00	0	0
柠檬酸钠	乙酸乙烯酯	0.80	0.80	0	0
Na ₂ CO ₃	乙酸乙烯酯	1.00	1.00	0	0
K ₃ PO ₄	乙酸乙烯酯	1.03	1.00	0.03	0
乙酸镁	乙酸乙烯酯	1.15	1.00	0.10	0.05
乙酸钠	乙酸乙烯酯	1.82	0.91	0.54	0.37

注: 反应条件 40℃, 70h, 2.3mol 乙酰化剂/(molAGU) [245]。

如 6.2 中所介绍, 淀粉在 DMAc/LiCl 中进行苯甲磺酸化反应时, 2 位选择性更明显。纤维素的硅烷化反应也明显受反应介质影响 (见图 9.7)。

采用以上合成方法, 可制备具有设计改性方式的多糖酯, 这为后续的结构性能关系研究以及开辟新的应用领域奠定了良好基础, 相关内容将在下一章进行介绍。



图 9.7 纤维素 (a) 和 2,3,6-三-O-乙酰纤维素 (b) 的 ¹³C NMR 谱图

9.3 多糖的酯化反应

多糖的酯化反应是指多糖分子中的羟基与酯化剂在一定的反应条件下发生酯化反应, 生成多糖酯的过程。多糖酯化反应是制备多糖衍生物的重要手段之一, 广泛应用于多糖的改性、分离、纯化以及生物材料等领域。多糖酯化反应的类型可以根据酯化剂的不同分为乙酸酯化、苯甲酸酯化、硅烷化等。其中, 乙酸酯化是最常见的多糖酯化反应, 其反应条件相对温和, 且产物稳定。苯甲酸酯化反应则具有较高的选择性, 常用于制备具有特定功能的多糖衍生物。硅烷化反应则主要用于多糖的疏水化改性, 以提高其在有机溶剂中的溶解性。多糖酯化反应的研究对于理解多糖的化学性质、开发新型多糖材料具有重要的意义。

10 应用新示例

据 Scifinder (美国化学学会, 2005 年 7 月) 检索结果, 共有超过 76000 篇文献涉及多糖酯的应用, 其中报道最多的是纤维素酯 (约 57500 篇), 其次为淀粉酯 (约 9500 篇)、右旋糖苷 (约 7900 篇)、甲壳素酯 (约 430 篇) 以及凝胶多糖酯 (约 130 篇), 从表 10.1, 可以了解纤维素酯的重要性及其主要工业应用领域。

表 10.1 纤维素有机酯的主要应用领域及 1985 年的产量^[94]

纤维素酯	DP	DS		主要应用领域	产量/(t/年)
		乙酰基	丙基或丁基		
三乙酯	150~360	2.8~3.0	—	纺织纤维、感光胶片	280000
二乙酯	100~200	2.5	—	绝缘涂层	60000
		2.4	—	过滤丝、热塑材料	370000
		2.4	—	黏胶纤维箔	60000
		2.3	—	热塑材料	
乙酰丙酯	150~200	0.3	2.3	热塑材料	5000
乙酰丁酯	100~150	2.1	0.6	涂层和绝缘原材料、箔	
		2.0	0.7	箔、胶片	
		1.0	1.6	热塑材料	40000
		0.5	2.3	熔融镀膜材料	
					Σ815000

新近发展起来的多糖酯应用领域有新型涂层、药物控释载体、生物可降解聚合物、复合材料、感光胶片以及功能膜等。通过多步酯化反应, 可制备具有设计性能的衍生物, 即引入两种甚至多种酯基, 一种酯基决定衍生物的加工性能, 另一种酯基赋予其他特殊性能, 文献 [447] 对此进行了详细综述, 文中涉及多种多糖衍生物, 并主要介绍了纤维素酯, 部分常见纤维素酯的结构如图 10.1 所示。

Glasser 在文献 [448] 中展望了多糖酯的应用趋势, 并对近期纤维素酯相关研究论文的数量进行了评价, 从发表该领域研究成果最多的期刊的类型 (见表 10.2) 可以看出, 研究者对多糖酯在形成高级结构、生物活性、生物相容性 (可促进新分离技术的发展)、生物医疗器械和医药等领域的研究兴趣日益浓厚。本书将向读者介绍上述领域的部分研究进展, 以便大家对新型多糖酯的应用前景有个初步了解。

10.1 选择性分离材料

多糖衍生物已在膜材料和色谱选择性固定相方面获得好的应用,文献[447, 449]对纤维素基材料在超滤、反渗透和透析中的应用进行了全面综述,多糖及多糖衍生物的特殊高级结构似乎是其具有高分离效率的原因,尤其是在手性分离中,手性分子与纯多糖和多糖衍生物存在类似于手性识别的相互作用。多糖和完全衍生化的酯可能具有相同高级结构,如凝胶多糖三乙酸酯晶胞含有六个呈6/1-螺旋对称的RU,该结构与凝胶多糖的骨架结构(构型I)完全相同^[450]。与其他手性相不同,在手性分离中,多糖酯与溶质间不存在氢键作用^[451]。但是,纤维素三乙酸酯在柱填料上固化时,不同溶剂处理所得产物具有不同结构规整性,结构规整性对手性分离效率影响显著,由此可以确定,高级结构对多糖的手性分离性能起着决定性作用^[452]。

10.1.1 色谱固定相

纤维素的取代苯基氨基甲酸酯通过共价键固定在硅胶表面,广泛用作色谱固定相^[453];除此之外,多糖三酯^[447]也被用作色谱固定相(见表10.3)。

表 10.3 用作色谱固定相的新型纤维素酯

纤维素酯	特 点	参考文献
乙酸酯	识别外消旋的硫代亚磺酸酯	[454]
苯甲酸酯	区分 <i>R</i> (+)-和 <i>S</i> (-)-苄基-3-四氢呋喃	[455]
4-甲基-苄基苯甲酸酯	识别噻唑基苯并咪唑	[456]
烷烯酰苯甲酰/苯甲酸酯	通过自由基接枝反应与乙烯基或烯丙基硅连接	[457]
10-十一碳烯酰/苯甲酸酯		[458]
10-十一烯酸酯/4-甲基-苯甲酸酯		
丙烯酸酯,甲基丙烯酸酯	与硅胶表面共价连接	[459]

有趣的是,以选择性取代的纤维素酯作固定相时,手性识别能力取决于酯基的分布情况,如6-*O*-乙酰基-2,3-二-*O*-苯甲酰纤维素和2,3-二-*O*-乙酰基-6-*O*-苯甲酰纤维素的手性识别能力存在差异^[460]。

10.1.2 选择性膜

最常用的多糖膜也源于纤维素酯,已在几乎所有类型的分离过程中有应用^[447]。除了纤维素,半乳甘露聚糖和凝胶多糖酯也是很有潜力的成膜材料,瓜尔胶甲酸酯可制成超薄半透膜^[181]。浇铸含甲酸和添加剂(如水和DMF)的凝胶多糖乙酸酯溶液,可制备超滤膜^[461]。

制备选择性膜的新途径主要有:分子印迹技术,通过静电作用形成特定超分子结构,如聚(二烯丙基二甲基铵氯)和纤维素硫酸半酯相互作用,形成聚电解质复合物^[462],这些聚电解质复合物可用于制备具有特定截留值的胶囊,用于固定生物体,如酵母^[463,464]。在免疫保护环境下,将纤维素硫酸半酯基胶囊用于基因修饰

细胞的原位化学治疗，对人类实性肿瘤治疗可能很有效 [465,466]。

在材料表面导入某些离子基团，可使材料具有显著生物选择性。用右旋糖苷硫酸半酯处理含 $-NH_3^+$ 的多孔聚丙烯，所得材料可以很容易地将 HIV 病毒和相关物质从血液、血浆或其他体液中分离，用该材料过滤含 HIV 病毒的人的血浆，可以去除 99.2% 的 HIV 病毒 [467]。

由纤维素乙酸酯与苄氧羰基-L-谷氨酸或苄氧羰基-D-谷氨酸，制备了分子印迹高分子膜，该印迹膜可识别含 D-谷氨酸的外消旋混合物中的 L-谷氨酸，反之亦然 [468,469]。以纤维素乙酸酯和磺化聚砜的混合物为基质，通过相反转法，用含模板分子的溶液，制备了分子印迹材料。以罗丹明 B 为模板分子制备了印迹膜，以该印迹膜和空白膜（制备时不加罗丹明 B）过滤罗丹明 B，结果证实，印迹膜确实存在表面印迹（见图 10.2 [470]）。

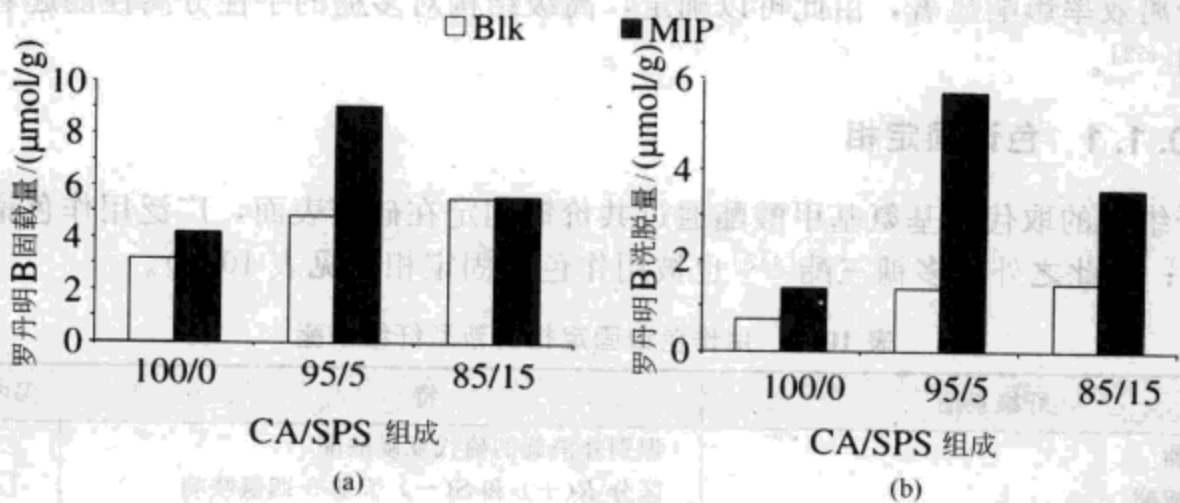


图 10.2 含不同比例纤维素乙酯(CA)-磺化聚砜 (SPS) 的分子印迹膜 (MIP) 和空白膜 (Blk) 的固相萃取结果

[(a) 通过过滤 10mL 10^{-5} mol/L 的水溶液固定化罗丹明 B (Rh B); (b) 固载 Rh B 后用 10mL 甲醇、水和 2mol/L NaCl 淋洗 (膜面积 3.5 cm², 厚度约 150μm [471])]

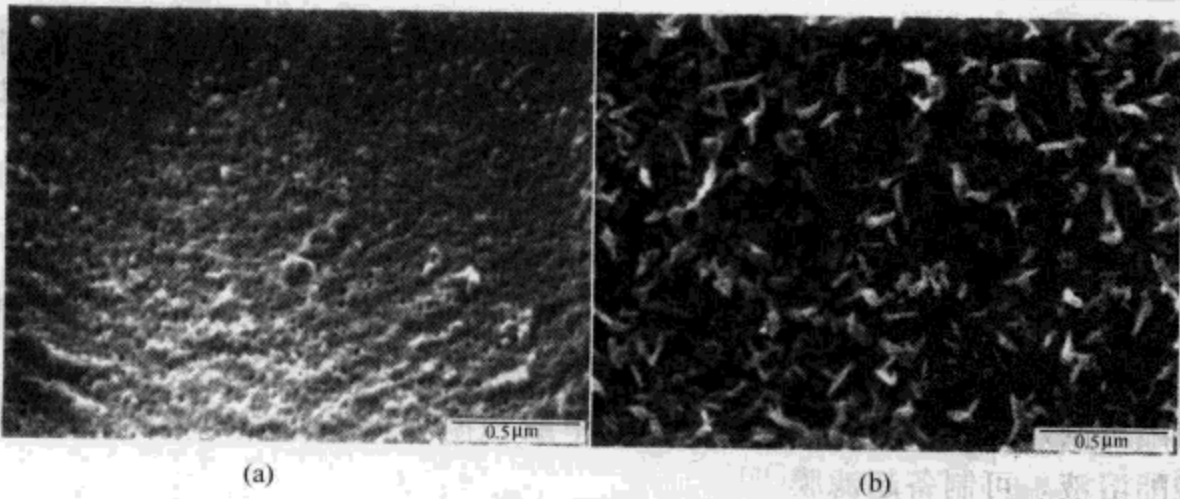


图 10.3 高分辨率 SEM 图像显示印迹膜 (a) 和对照膜 (b) (纤维素乙酯：磺化聚砜=95：5) 的顶层结构存在明显差异 [471]

采用扫描力显微镜和气体等温吸附法对膜表面进行研究，发现印迹膜和空白膜的孔结构存在明显差异，这种差异与印迹效率密切相关（见图 10.3 [471]）。

10.2 生物活性

硫酸多糖具有最显著的生物活性，在许多生物系统中，天然多糖扮演着重要角色，如半合成的多糖硫酸半酯具有类似肝素的抗凝血活性，肝素是临床术前和术后的防血栓药品，但是，肝素的化学不均一性和不稳定的生理活性导致很多副反应发生，因此，半合成的多糖硫酸半酯受到了广泛关注和研究。表 10.4 为常见的具有生物活性的多糖酯。

表 10.4 具有显著生物活性的多糖酯

多糖硫酸半酯	生物活性	特 点	参考文献
凝胶多糖	抗凝血性	抑制肺转移	[472]
	抗肿瘤		[473]
	抗艾滋病病毒		[474]
	治疗重症脑型疟疾		[475]
纤维素	抗凝血性		[476]
	影响血压		[477]
	治疗牙周炎		[478]
	抗艾滋病病毒		[479]
右旋糖苷	抗凝血性		[480]
	抗艾滋病病毒		[479]
木聚糖	抗凝血性		[480]
	抗肿瘤活性	抑制肺转移	[473]
裂褶多糖	抗艾滋病病毒	抑制艾滋病病毒转移	[481]
甲壳素	抑制细胞增殖		[482]
壳聚糖			[483]
棕榈酰基右旋糖苷磷酸酯	抗肿瘤活性	恶性 183 腹水性肿瘤生长减缓 82%	[484]
乙酸苯酯羧甲基苯甲胺	对乳癌生长中细胞凋亡、抗血管新生和抗增殖性	该酯具有与单一组分类似性能，但活性更高	[485]
右旋糖苷			
木聚糖 ^①	抗凝血性		[350]
右旋糖苷 ^①	增强免疫性		[347]
壳聚糖 ^①	骨修复		[486]
	消炎		[487]

① 磷酸酯。

研究发现，纤维素和右旋糖苷硫酸半酯的抗凝血性至少部分能由抗凝血酶Ⅲ调节^[476]，抗凝血活性受取代方式影响，纤维素酯的抗凝血活性主要受仲羟基的取代情况影响，受分子量影响较小；但是，纤维素酯的毒性却同时受取代方式和分子量的影响^[488]。

硫酸化均多糖，如右旋糖苷和纤维素酯，对杀灭人类嗜 T 淋巴细胞Ⅲ型病毒 (HTLV-Ⅲ) 具有高活性；相反，中性均多糖没有活性，硫酸化杂多糖对 HTLV-Ⅲ仅有微弱活性，表明硫酸酯基和多糖类型对抑制 HTLV-Ⅲ 的生成最重要^[489]。一种制备具有抗 HIV 活性聚合物的新思路是：将抗 HIV 试剂，如齐多夫定，通过酯基

与硫酸凝胶多糖共价连接，形成多糖酯齐多夫定复合物，在活体器官内，一方面可以通过酶解复合物对齐多夫定进行控制释放，另一方面多糖酯自身结构也具有抗 HIV 的活性^[490]；为了实现药物的酶解释放，需在齐多夫定和多糖骨架间插入一个长的疏水亚烃基（见图 10.4），这种结构会增加聚合物的抗 HIV 活性、降低抗凝血活性^[491]。

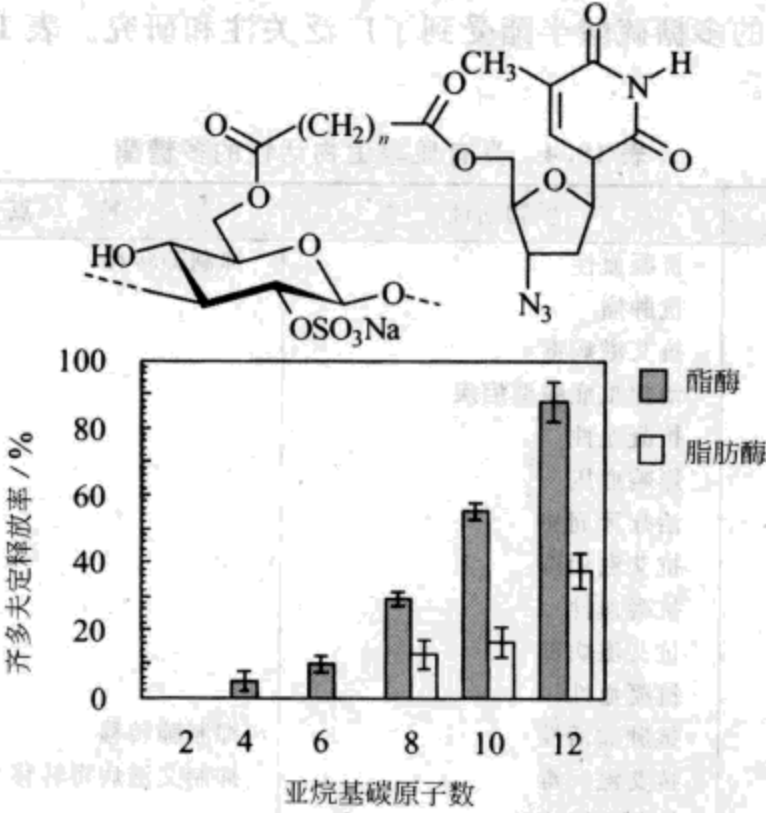


图 10.4 不同多糖硫酸半酯在酯酶和脂肪酶酶解过程中释放齐多夫定的情况 (37℃、24h^[491])

10.3 载体材料

采用新给药设备进行靶向施药，是近年治疗领域的主要进展之一，其中主要涉及特定结构材料（见图 10.1）的控释机理、注射用纳米颗粒体系、水凝胶的应用和水解不稳定前体药物的制备（该体系是近期的研究热点）。由于多糖酯具有生物可相容性和生物可降解性，目前多糖酯的相关研究也越来越引人注目。

10.3.1 多糖基前体药物

糖基前体药物是与生物活性试剂共价相连的可溶性多糖衍生物，共价键可在组织体内定点切断，释放出生物活性试剂。脱酯化反应可通过简单水解或酶解完成，因此，多糖酯适合用作前体药物载体。多糖酯可与各种不同药物连接。目前几乎所有水溶性前体药物均采用右旋糖苷。

将氨甲叶酸与右旋糖苷共价相接,可促进细胞毒素渗透入组织样基质^[492],这些前体药物杀死细胞和穿透组织如人脑肿瘤细胞(H80)的研究结果显示,缓慢释放的药物渗透组织程度更深,剂量疗效曲线向低剂量移动。

对抗哮喘症药物色甘酸的右旋糖苷酯研究发现,如果以色甘酰氯进行酰基化反应,载药量为2.5%(质量分数,下同),色甘酸酯按半衰期10h进行释放。采用咪唑制备药物载体,根据反应条件不同,色甘酸酯含量为0.8%~40%;37℃,pH 7.4,酯含量0.8%时,前体药物的半衰期为39min;酯含量40%时,半衰期为290min^[230]。在pH 7.4~9.2,37℃,水解右旋糖苷甲硝哒唑丁二酸酯,HPLC检测表明,甲硝哒唑右旋糖苷丁二酸酯释放速度比色甘酸酯慢,而且有趣的是,右旋糖苷邻位羟基可催化分子内水解反应^[493]。在甲硝哒唑右旋糖苷酯中,丁二酸和戊二酸为键桥,如反相HPLC和SEC分析显示,解离中同时生成甲硝哒唑和单酯衍生物,在0.05mol/L、pH 7.4的磷酸缓冲溶液和80%人血浆中,酯的稳定性相同,表明血浆中不存在酶催化反应。右旋糖苷马来酸、丁二酸和戊二酸衍生物的半衰期分别为1.5h、32.1h和50.6h^[494]。在DCC存在下,以甲硝哒唑丁二酸单酯对菊粉进行酰基化改性,制备了菊粉甲硝哒唑酯前体药物^[222]。

以不同DS的右旋糖苷萘啶酸酯为结肠定位前体药物,在胃类似环境下,6h内无药物释放,表明在通过胃肠道时,该水溶性前体药物是化学稳定的^[495]。由肠炎药5-氨基水杨酸制备的酯类结肠定位前体药物和右旋糖苷-5-(乙氧羰基苯基偶氮)水杨酸酯均存在上述现象^[496,497]。

前体药物也是在生物环境里传输亲脂性药物的一种有效途径,如通过酰基化反应将亲脂药物萘普生与右旋糖苷相连,萘普生右旋糖苷酯的水溶性明显高于其酸式(约500倍),60℃该酯在缓冲溶液中进行酸碱催化水解反应,与在人血浆中的降解速度几乎相同,表明萘普生右旋糖苷酯的水解不受血浆酶催化^[498,499]。对酮基布洛芬、双氯芬酸、布洛芬和非诺洛芬的右旋糖苷酯研究发现,采用右旋糖苷酯前体药物,可使带一个羧基的药物实现结肠定位给药^[500,501]。

将大鼠胰岛素和水溶性磺脲普鲁兰酯固定在普通海藻酸钠-聚(L-赖氨酸)微胶囊上,研究了磺脲普鲁兰酯的降糖活性和细胞活性,长时间(1个月)培养实验表明,带磺脲普鲁兰酯的微胶囊形态保持较好,且与不带磺脲普鲁兰酯的微胶囊相比,胰岛素分泌水平更高、应对葡萄糖变化能力也更强^[502]。

10.3.2 纳米粒子和水凝胶

多糖及其衍生物易于形成特殊的高级结构,基于这种性质,可制备聚合物纳米结构。聚合物纳米颗粒在医药领域,尤其是适合针剂注射的靶向药物载体、多功能生物医药设备和造影剂^[208,503~505]等方面,受到了广泛关注。制备部分疏水的多糖衍生物,该衍生物可形成纳米粒子,如5.2所述,采用DCC使部分取代的普鲁兰乙酸酯的自由羟基和羧甲基聚乙二醇进行酰基化反应,可得纳米粒子,光子相关光谱(PCS)检测显示,颗粒粒度约193nm,颗粒均匀。氯硝西洋很容易与聚合物纳米粒子作用,以氯硝西洋为模型药物,药物释放主要受扩散控制^[218]。此外,通过

酶催化酯交换反应也可制备纳米粒子。以 *Candida Antarctica* 脂肪酶 B 为催化剂，烯丙基硬酸酯对淀粉纳米粒子进行选择酯化，去除改性淀粉纳米粒子上的表面活性剂，纳米粒子可分散在 DMSO 或水中，且保持纳米尺寸 [246]。

在透析过程中，聚合物可通过胶束聚集形成聚合物纳米粒子，亲水-疏水平衡调节对上述过程非常必要，以生物相容的丙酸酯和焦谷氨酸酯，对右旋糖苷进行两步酯化改性，可调节亲水-疏水平衡，产物高度改性 [506]，大部分颗粒直径 370nm [见图 10.5(a)]；图 10.5(b) 的 SEM 图显示，3 周内，纳米粒子在悬浮液中的形态没有任何改变。如第 9 章所介绍，以脱氧胆酸在甲醇中对壳聚糖进行选择改性，可制备壳聚糖纳米粒子，颗粒直径 161~180nm [507]。

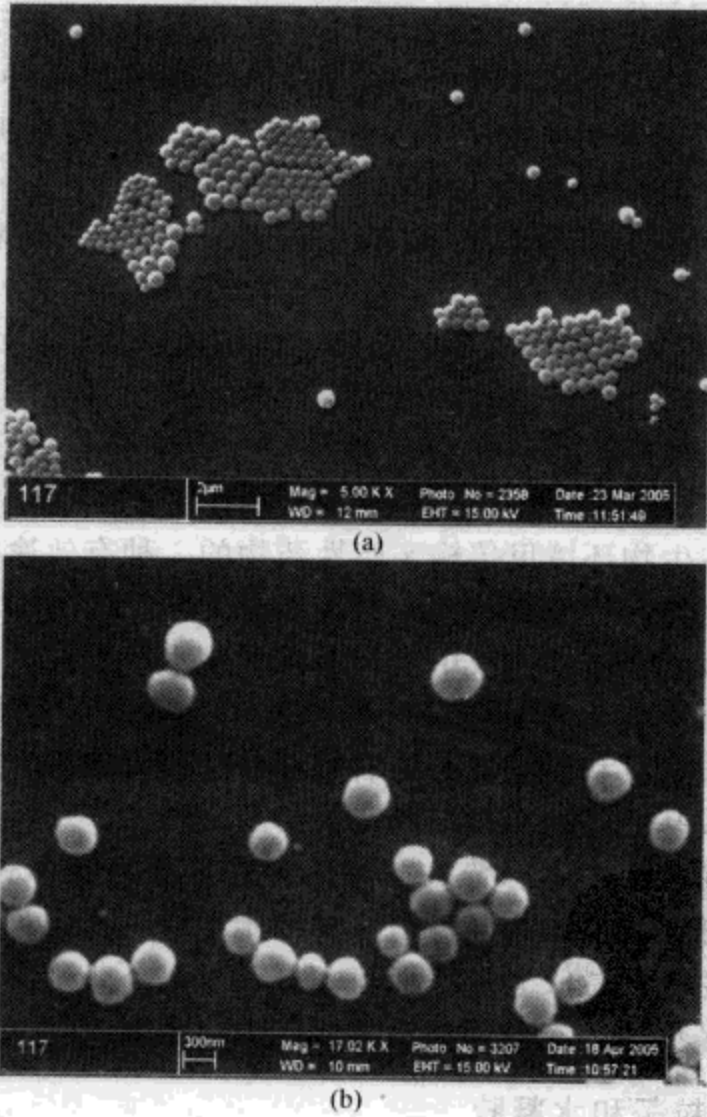


图 10.5 在石墨涂布的云母片上的右旋糖苷丙酸焦谷氨酸酯的 SEM 图
(a) 透析直接所得；(b) 在水中贮存 3 周后 [506]

除了纳米粒子，水凝胶也是一类新的多糖基药物载体和保护性密封材料，如用于基因治疗的病毒载体 [508]，右旋糖苷马来酸单酯即为其中的一种，该水凝胶的前体可溶于各种普通有机溶剂，以长波紫外光 (365nm) 照射，即得右旋糖苷马来酸酯水凝胶，据 DS 和介质 pH 不同，水凝胶的溶胀程度不同 (溶胀率 67%~227%)，中性 pH 环境下溶胀性最高，其次为酸性 (pH 3) 和碱性条件 (pH 10)，

溶胀率随 DS 增加而增加^[509]。以相同方式制备了右旋糖苷甲基丙烯酸酯水凝胶，在冰冻固定和冷冻断裂处理后，以 SEM 研究水凝胶的表面和内部结构，发现溶胀水凝胶具有特殊的三维孔结构（见图 10.6），这种结构在未溶胀的水凝胶中不明显，溶胀水凝胶表面和内部具有不同的孔尺寸及形态^[156]。

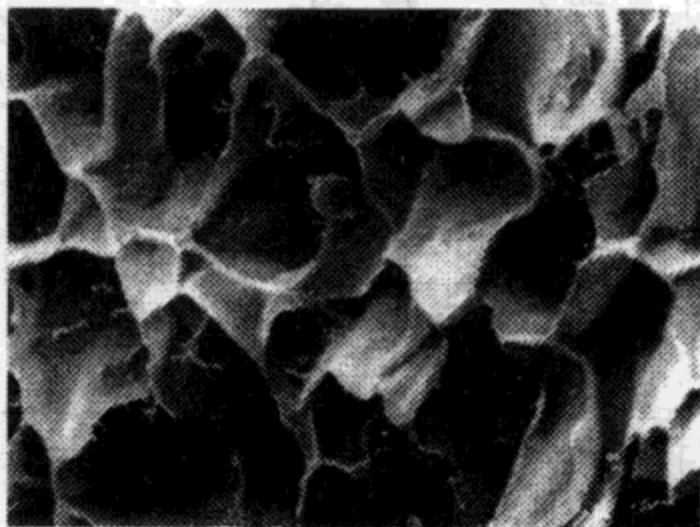


图 10.6 SEM 观察到的右旋糖苷甲基丙烯酸酯水凝胶的三维孔结构

在偶氮二异丁腈存在下，右旋糖苷甲基丙烯酸酯与 N-异丙烯酸酯在 DMSO 中发生聚合，获得透明水凝胶，这些透明水凝胶宜用作阻黏剂、组织黏合剂、伤口敷料、止血剂和栓塞材料^[510]。

10.3.3 血浆替代品

血浆替代品，是多糖酯尤其是淀粉乙酸酯的又一重要应用领域，胶体性血浆替代品为胶体和电解质的水溶液，具有与血液相同的渗透压，用于替代失去的血液，可起到稳定循环、稀释血液和改善微循环的作用。人造胶体血浆替代品无菌、贮藏时间长、不存在传播疾病的危险，且可以大量低成本制备，人造胶体血浆替代品的市场也正日益增长^[511]。血浆替代品需具有与原血液相同的胶体渗透压，因此，血浆替代品通常为高聚物。目前广泛应用的羟乙基淀粉仍存在一些缺陷：酯基阻碍了 α -淀粉酶的进攻，导致羟乙基淀粉降解速度慢且降解不完全，长时间应用可能引起体内堆积。

淀粉乙酸酯可以很快被新陈代谢，因为酯基可被酯酶分解，所得纯淀粉能进一步被 α -淀粉酶降解。所用淀粉摩尔质量需控制在 $10000 \sim 500000 \text{ g/mol}$ ，这可以通过控制酶降解过程实现^[130,512,513]；淀粉乙酸酯的 DS 为 $0.3 \sim 0.8$ ，NMR 谱图显示，所有位点均发生了乙酰化，反应活性为： $2=3>6$ ^[514]。对男性志愿者血浆中的淀粉乙酸酯进行研究的结果显示，淀粉乙酸酯与羟乙基淀粉具有不同的代谢途径，淀粉乙酸酯在体内降解速度更快、更彻底。

人们希望淀粉乙酸酯在血液中易于水解，这同时引出另一个问题：贮藏时间变短，2 位选择性乙酰化改性可以克服这个问题，因为所得产物更稳定，淀粉乙酸酯的稳定性如图 10.7 所示。

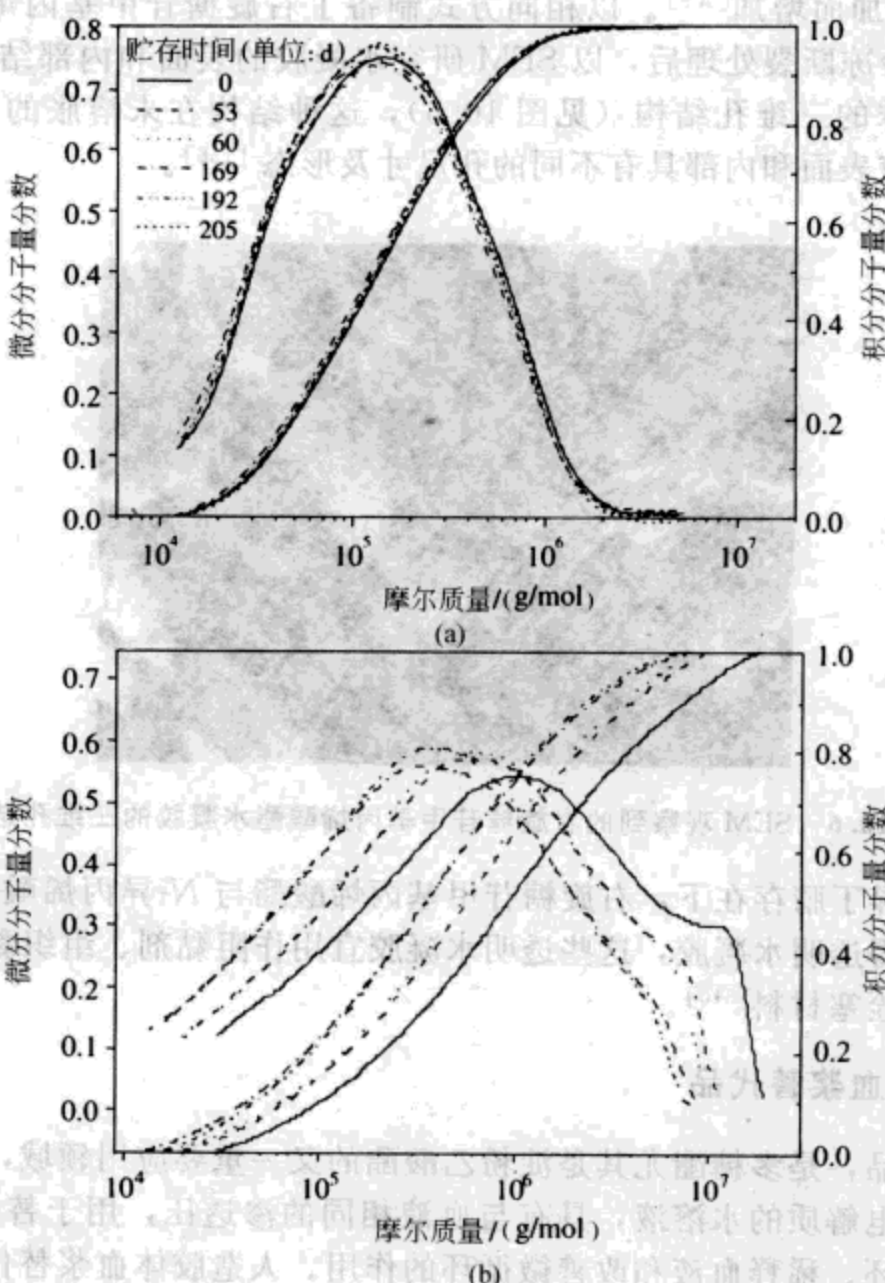


图 10.7 选择性改性的淀粉乙酸酯 (a) 和非选择性乙酰化的淀粉 (b) 在贮藏 205 天过程中的稳定性比较 (由分子量降低情况所得)

11 展 望

多糖是迄今世界上含量最丰富的可再生天然高分子资源，它具有丰富的结构多样性和多功能性，也是生命最基本单元的重要组成部分。目前部分多糖，尤其是纤维素、淀粉及其半合成的衍生物，已被商业应用，但绝大部分多糖及多糖酯仍未得到应用。近年来，多糖相关基础及应用研究已获得了长足发展，由多糖酯化反应的最新研究成果，我们清楚地认识到，多糖的研究和应用必定越来越广泛、越来越深入。

本书主要介绍了纤维素、小核菌葡聚糖、裂褶多糖、右旋糖苷、普鲁兰、淀粉（直链淀粉和支链淀粉）、木聚糖、瓜尔胶、凝胶多糖、菊粉、甲壳素、壳聚糖和海藻酸钠的结构分析方法及酯化反应，向读者展示了多糖研究和开发的主要特点及研究途径。就化学改性反应和应用而言，纤维素是最重要的多糖，因为纤维素纯度高、含量最丰富，纤维素及其衍生物也是最早被分离和应用的高分子材料之一，然而，这种现状将来可能会发生改变，因为目前研究者正投入大量精力，采用新的生物技术和高效分离技术，开发许多其他天然含量丰富、性能优越的多糖。丰富的结构多样性有助于多糖这类重要生物高分子的广泛应用，甚至超越绿色化学这一最重要的途径，将多糖纳入生物圈（摇篮到坟墓）只是多糖研究的一个热点；通过超分子作用，构建设计结构，使多糖在生物系统中发挥重要作用，是多糖研究的另一重要热点，多糖的特殊性必定会将其带入更多更新的应用领域。

要充分发挥多糖的优势，设计的化学改性是一种有力的辅助手段，在由可再生的多糖开发新产品的过程中，多糖酯化反应必将继续扮演重要角色。采用“正确”的多糖和酸进行酯化反应，即可实现产物结构和性能的设计。本书所介绍的酯化方法，至少在实验室规模，可用于共价连接多糖和任何已知酸。现代有机化学的许多新试剂也被应用到多糖酯化反应中，但要制备具有商业应用前景的高纯度、生物相容的多糖材料，还需继续探寻更适合多糖的酯化方法，即保证多糖骨架上无任何副反应发生。酶促酰基化反应的可行性也需要进一步深入研究。高效的酯化反应是多步改性制备设计产品的前提，通过连续反应或“一锅”反应，由多糖与不同酸制备具有不同取代方式的衍生物，在科学研究和商业开发两方面均有着积极的意义。化学选择性酯化和立体选择性酯化是目前面临的又一挑战，适合多糖的新保护基团是促进该领域发展的关键。研究者应考虑多采用天然酸来合成新型多糖酯，这不仅符合绿色化学的要求，也遵循了仿生学的基本原则。

另一个蓬勃发展的研究领域是各种不同已知或新多糖衍生物的结构解析，NMR 光谱法是解析多糖酯分子结构最有前景的方法之一，尤其是针对后续完全衍生化产物的 ^1H NMR 法，该方法高效、可信、成本低、结构信息量最大，但是，

12 实验方案

纤维素三乙酯, Dormagen 法^[515,516]

将 6g (37mmol) 纤维素与 2.1g (35mmol) 冰醋酸混合, 在室温下保持 18h。将温度控制在 25℃ 以下, 加入 16.5g (0.162mol) 乙酸酐、22.0mL 二氯甲烷和 0.03mL 浓 H_2SO_4 , 搅拌下将纸浆纤维缓慢加热 (15℃/h) 至 40℃, 将温度保持在 40℃, 直到纤维完全溶解。首先将 2g 醋酸钾溶解于 50% 醋酸溶液, 再加入反应体系中以分解过量的 H_2SO_4 。滴加 80.0mL 水, 使乙酸酐转化为乙酸。旋转蒸发脱除二氯甲烷, 将剩余黏液倒入水中沉降, 水洗、干燥, 得纤维素乙酸酯, 溶解度见表 4.1。

纤维素-2,5-乙酯; 仲酯^[516]

将 6g (37mmol) 纤维素与 2.1g (35mmol) 冰醋酸一起研磨, 在室温下保持 18h。将温度控制在 25℃ 以下, 加入 16.5g (0.162mol) 乙酸酐、22.0mL 二氯甲烷和 0.03mL 浓 H_2SO_4 , 搅拌下将纸浆纤维缓慢 (15℃/h) 加热至 40℃, 将温度保持在 40℃, 直到纤维完全溶解。首先将 0.03mL 浓 H_2SO_4 溶于 3.0mL 水中, 再加入到反应体系中, 60℃ 下, 搅拌反应, 直到纤维素酯可溶于丙酮 (可以取小量样品, 在甲醇中沉降、洗涤后, 再测试溶解性)。当纤维素酯可溶于丙酮后, 加入含 0.6g 乙酸钠的 50% 乙酸溶液, 旋转蒸发脱除二氯甲烷。在水中沉降所得纤维素酯, 洗涤、干燥, 产物 DS 2.38, 溶解性见表 4.1。

纤维素三乙酯, 同型聚合物反应^[88]

将 10g (62mmol) 棉短线置于 250mL 圆底烧瓶, 再加入 80mL (1.4mol) 冰醋酸、120mL 甲苯和 2.0mL 71%~73% HClO_4 的混合溶液, 先将混合物剧烈振荡几分钟, 多余的液体轻轻倒入 50mL (0.529mol) 乙酸酐, 旋转混合物, 并立刻倒回带棉短线的烧瓶, 该过程目的在于降低高浓度乙酸酐与纤维接触的可能性, 所得产物可能具有比一般产物更高的乙酰度。将密封的烧瓶在 30℃ 振荡 8h 后, 用乙醇沉降、洗涤三次, 再用水洗涤多次, 以去除残余酸, 直到溶液呈中性。用乙醇洗涤纤维素乙酸酯, 60℃ 真空干燥过夜。产物 DS 2.93, ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 171.3, 170.4, 170.1$ ($\text{C}=\text{O}$), 100.4, 77.0, 73.6, 73.2, 72.9, 63.4 (聚合物骨架), 21.2, 20.9 (CH_3)。

纤维素戊酸酯, Py 中的非均相反应, 以 TFAA 为促进剂进行羧酸活化反应^[95]

将 100mL [19.4mol/(mol AGU)] TFAA 与 96mL [23.9mol/(mol AGU)] 戊

酸混合,并在 50℃ 下搅拌 20min,将上述溶液加入到 6.0g (37mmol) 干燥的纤维素粉末中,在 50℃ 加热 5h 后,将反应混合物倒入甲醇,过滤、甲醇反复洗涤、干燥。产物 DS 2.79。

半纤维素乙酸酯,在 DMF 中反应, NBS 活化^[98]

将 0.66g 干燥半纤维素粉末分散在 10mL 蒸馏水中,加热至 80℃,搅拌至半纤维素完全溶解(约 10min)。再加入 5mL DMF,搅拌 5min。在减压条件下、50℃,多次共沸蒸馏 0.5h,脱除溶胀凝胶中的水分,该过程共回收约 12mL 溶剂。加入 30mL 乙酸酐和 0.3g (1.3mmol) NBS,在 65℃ 加热该均相反应体系 5h。冷却至室温后,在搅拌下将混合物缓慢倒入 120mL 95% 乙醇过滤,乙醇和丙酮洗涤,空气干燥 12h 后,再在 55℃ 下干燥 12h。产物 DS 1.15, FTIR (KBr): $1752\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O), $1347\text{cm}^{-1}\nu$ (C—CH₃), $1247\text{cm}^{-1}\nu$ (C—O)。

右旋糖苷棕榈酸酯,在 Py/甲苯中与棕榈酰氯非均相反应^[92]

将 20g (123mmol) 右旋糖苷、100g (363mmol) 棕榈酰氯、75g Py 和 75g 甲苯的混合物,在 105~110℃、剧烈搅拌下,回流加热 1.5h。将混合物冷却至室温,以 250mL 水洗涤后,向残余物加入 100mL 氯仿,振荡,向剩余溶液加入 1L 甲醇以沉降产物,过滤,将产物酯溶于 75mL 甲苯和 100mL 氯仿的混合物,在甲醇中再沉降、分离、干燥。产物 DS 2.9,可溶于氯仿、四氯化碳、苯、甲苯和二甲苯。

普鲁兰乙酸酯,在 Py 中非均相反应^[102]

将 1.0g (6.2mmol AGU, 1.8mmol RU) 普鲁兰悬浮于 20mL Py 中,加入 0.25g (2.0mmol) DMAP, 100℃ 下搅拌混合物 2h,再加入 10mL (0.106mol) 乙酸酐,继续搅拌 1h。以水沉降产物、过滤,在水中用丙酮溶液进行再沉降。产物 DS 3.0, ^1H NMR (CDCl₃): $\delta = 3.57 \sim 5.49$ (H_{麦芽三糖}), $1.96 \sim 2.14$ (CH₃); ^{13}C NMR (CDCl₃): $\delta = 62.8 \sim 96.0$ (C_{麦芽三糖}), $169.0 \sim 170.7$ (C=O_酯)。

甲壳素乙酸酯,Py 中的非均相反应^[103]

将 0.207g (1.1mmol) β -甲壳素 (DDA0.16) 与 20.0mL (0.2473mol) Py 混合,加入 10.0mL (0.106mol) 乙酸酐和 0.20g DMAP,氮气保护下,50℃ 加热 48h,得呈微棕红色的混合物。将混合物倒入冰水中,过滤,得棕褐色沉淀,以水和丙酮洗涤,干燥。产物 DS 3.0。

淀粉辛酸酯,在 Py 中与辛酰氯非均相反应^[517]

向 2.5g (15mmol) 干燥淀粉加入 15mL Py 和 45g (0.28mol) 辛酰氯,在 115℃ 加热反应 6h。在混合物冷却后,剧烈搅拌下将混合物倒入 200mL 无水乙醇,过滤,以 200mL 乙醇洗涤两遍,空气蒸馏去除过量乙醇,50℃ 下干燥过夜,得淀

粉酯。产物 DS 2.7, FTIR (KBr): $3380\text{cm}^{-1}\nu(\text{OH})$, $2927\text{cm}^{-1}\nu(\text{CH})$ 和 $2856\text{cm}^{-1}\nu(\text{CH})$, $1746\text{cm}^{-1}\nu(\text{C}=\text{O}_{\text{酯}})$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: $\delta = 0.81(\text{CH}_3)$, $1.20(\text{CH}_2)$, $1.43(\text{COCH}_2\text{CH}_2)$, $2.26(\text{OCOCH}_2)$, $3.50\sim 5.40(\text{H}_{\text{AGU}})$ 。

纤维素, 在 DMAc/LiCl 中溶解^[169]

将 1.0g (6.2mmol) 干燥纤维素和 40.0mLDMAc, 在 130°C 搅拌加热 2h, 冷却到 100°C 后, 加入 3.0g 无水 LiCl, 搅拌下冷却到室温, 纤维素完全溶解。

纤维素, 溶解于 DMSO/多聚甲醛^[193]

将 0.10g (0.62mmol) 纤维素和 0.50g 多聚甲醛分散在 10.0mLDMSO 中, 快速搅拌下, 加热至 130°C , 保持 6~8min, 有甲醛释放, 在气泡剧烈释放后, 迅速得到清澈溶液。如果纤维素不能溶解, 可增加多聚甲醛用量, 直到得到真溶液。所用多聚甲醛的含水量不能超过 5%, DMSO/多聚甲醛/纤维素体系的总含水量需低于 1%。

纤维素乙酸壬酸酯, 在 DMA 中非均相反应, 异丙醇钛 (IV) 为催化剂^[518]

将 5.0g (31mmol) 纤维素和 35g DMAc, 在氮气中、 100°C , 加热 1h。将 6.3g [2mol/(mol AGU)] 乙酸酐、19.4g [2mol/(mol AGU)] 壬酸酐和 0.15g [17.1mmol/(mol AGU)] 异丙醇钛加入上述活化纤维素, 并在 150°C 加热 8h。冷却至 20°C 后, 将清澈溶液倒入甲醇中, 在甲醇中浆化、过滤; 重复上述过程, 直到滤液变清澈。在水中重复上述成浆和过滤过程两次。 60°C 真空干燥。产物 $\text{DS}_{\text{乙酰基}} 2.03$, $\text{DS}_{\text{壬酰基}} 0.70$ 。产物溶于丙酮、乙酸、THF、 CHCl_3 、DMSO 和 NMP。

淀粉庚酸酯, 与庚酰氯在水中的酰基化反应^[136]

在室温、氮气保护、机械搅拌下, 将 6.75g (42mmol) 淀粉 (Hylon VII) 加入 50mL 2.5mol/L NaOH 溶液中, 直到淀粉颗粒全部凝胶化 (约 30min)。将 3.1g (21mmol) 庚酰氯逐滴加入上述体系, 搅拌 1h。用乙酸将混合物中和到 pH 7 后, 在 150mL 甲醇中沉降产物, 过滤分离。用 150mL 甲醇水溶液 (70%) 洗涤, 过滤, 重复两遍, 空气中蒸发脱除甲醇, 在 50°C 干燥过夜, 得淀粉酯。产物 DS 0.25。

右旋糖苷乙酸酯, 在甲酰胺中与乙酸酐均相反应^[519]

搅拌下, 将 15g 甲胺、15g Py 加入 1.0g (6.2mmol) 右旋糖苷中, 再缓慢加入 12g 乙酸酐, $20\sim 30^\circ\text{C}$ 搅拌反应 18h; 将反应混合物缓慢倒入 150mL 水中, 离心分离, 水洗, 产物右旋糖苷酯微带色; 乙醇洗涤, 右旋糖苷酯变得几乎无色。产物 DS 3.0, 溶于四氯乙烷。

普鲁兰单丁二酸酯, 在 DMSO 中与丁二酸酐均相反应^[144]

向 1.0g (6.2mmol) 普鲁兰的 DMSO 溶液 (15mL), 加入 2.5g (25mmol) 丁二酸酐的 DMSO 溶液 (10mL), 升温至 40℃, 再搅拌加入 0.28g (2.6mmol) DMAP, 以五倍体积的乙醇: 乙醚混合物 (1:1, 体积比) 沉降分离产物, 将干燥沉淀溶于 10mL 水中, 采用制备凝胶色谱分离纯化 (300mL, Sephadex G-2, 淋洗液: 水, 淋洗速度 2mL/min, 400 示差检测器), 收集聚合物段, 冷冻干燥。产物 DS 3.0。

纤维素乙酸酯, 在 [C₄mim]Cl 中均相反应^[153]

将 0.5g (3.09mmol) 纤维素与 4.5g 熔融 [C₄mim]Cl 混合, 在高于 [C₄mim]Cl 熔点 10℃ 的温度下, 搅拌 12h, 直到纤维素完全溶解。80℃, 将 1.09mL [5mol/(mol AGU)] 乙酰氯逐滴加入上述溶液, 搅拌反应 2h。在 200mL 甲醇中沉降、洗涤、分离, 60℃ 真空干燥, 得纤维素乙酸酯。产物收率 0.75g (85.9%), DS 3.0, FTIR (KBr): 2890cm⁻¹ν (CH), 1750cm⁻¹ν (C=O_酯)。¹³C NMR (DMSO-d₆): δ=168.9~170.2 (C=O), 62.1~99.2 (改性 AGU)。

右旋糖苷马来酸酯, 在 DMF/LiCl 中与马来酸酐均相反应^[509]

在 90℃、氮气保护下, 将 5.0g (30.8mmol) 右旋糖苷溶于 DMF/LiCl (50mL/4.5g)。将溶液冷却到 60℃, 加入 0.4mL TEA (马来酸酐的 3%, 摩尔分数), 并在 60℃、氮气保护下, 搅拌 15min; 再缓慢加入 9.0g [3mol/(mol AGU)] 马来酸酐。冷异丙醇沉降, 过滤、异丙醇多次洗涤, 在室温下真空干燥。产物 DS 0.84, FTIR (KBr): 3500~2500cm⁻¹ν (OH), 3052cm⁻¹ν (C=C-H), 1728cm⁻¹ν (C=O), 1660~1640cm⁻¹ν (C=C), 824~822cm⁻¹ν (C=C-H)。¹H NMR (DMSO-d₆): δ=7.5 和 6.2 (C=C-H)。¹³C NMR (DMSO-d₆): δ=137 和 131 (C=C)。

右旋糖苷 α-萘乙酸酯, 在 DMF/LiCl 中均相合成, TosCl 原位活化 (源自文献 [202])

90℃, 将 2.0g (12.3mmol) 右旋糖苷溶于含 2.0g LiCl 的 DMF (100mL), 将溶液冷却至 50℃ 后, 搅拌加入 5.85g (74mmol) Py、6.89g (37mmol) α-萘乙酸和 37mmol TosCl, 反应 22h, 以异丙醇/二乙醚沉降产物, 以异丙醇/二乙醚对产物 THF 溶液进行再沉降, 纯化, 在 P₂O₅ 中真空干燥, 所得产物 DS 0.56。FTIR (KBr): 1720cm⁻¹ν (C=O), 1590cm⁻¹ν (C-C_{芳环}) 和 1510cm⁻¹ν (C-C_{芳环})。 ¹H NMR (DMSO-d₆): δ=7.2~7.8 (H_{芳环}), 4.1 (CH₂), 3.6~5.4 (右旋糖苷骨架)。 ¹³C NMR (DMSO-d₆): δ=170.3 (C=O), 133~123.4 (C_{芳环}), 98.1~66.6 (右旋糖苷骨架), 37.5 (CH₂)。

纤维素金刚烷酸酯, 在 DMAc/LiCl 中与金刚烷酰氯均相反应^[169]

将 3.7g (18.6mmol) 金刚烷酰氯和 1.8mL (22.3mmol) Py 加入到 40mL 含

2.5% (质量分数, 6.2mmol) 纤维素和 7.5% LiCl 的 DMAc 中, 80℃ 搅拌 24h, 将均相反应混合物倒入 250mL 乙醇中, 过滤后, 用乙醇洗涤, 室温真空干燥, 得产物 DS 1.92。FTIR (KBr): $3457\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), $2909\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), $2854\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), $1720\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O_酯)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta=176.5$ (C=O), 103.3 (C-1), 100.9 (C-1'), 81.3 (C-2, 3_s, C-4), 77.0 (C-3, C-5), 73.6 (C-2), 61.2 (C-6_s), 40.9 (α -C), 39.0 (β -CH₂), 36.4 (δ -CH₂), 27.9 (γ -CH)。

纤维素乙酸酯, 在 DMSO/TBAF 中与乙酸酐均相合成^[129]

将 1.0g (6.2mmol) 纤维素预先溶解于 60mL 含 11% (质量密度) TBAF 的 DMSO 溶液, 再将 1.45mL (15.3mmol) 乙酸酐加入到纤维素溶液中, 60℃ 加热 3h, 以 250mL 甲醇沉降, 过滤, 50mL 甲醇洗涤, 50℃ 真空干燥。产物 DS 1.20, FTIR (KBr): $1752\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O)。 ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta=169.1\sim 169.9$ (C=O), 60.3~102.5 (纤维素骨架)。

纤维素三乙酸酯, 在 1-乙基氯化吡啶/Py 中均相合成^[123]

将 100g 1-乙基氯化吡啶与 50.0mL Py 混合, 并在 85℃ 熔融。搅拌下, 将 2.0g (12.3mmol) 纤维素加入上述体系, 1h 后得清澈溶液。加入含 38mL (0.402mol) 乙酸酐和 55mL (0.682mol) Py 的混合溶液, 80℃, 搅拌反应 30min, 再反应 20~30min 后, 纤维素衍生物即以片状形式沉淀。冷却至 40℃, 加入二氯甲烷, 直到溶液清澈。以甲醇沉降产物, 分离、甲醇洗涤、干燥, 所得产物可以在甲醇中对二氯甲烷溶液再沉淀加以纯化。产物 DS 3.0。

纤维素糠酸酯, 在 DMAc/LiCl 中均相合成^[170]

将 2g (12.3mmol) 纤维素在水中活化 48h 后, 过滤; 在 100mL DMAc 中搅拌聚合物 24h 后, 过滤。重复上述过程三次。将 2g 活化纤维素溶解于 100mL 含 9% LiCl 的 DMAc 溶液中, 将所得纤维素溶液缓慢加入到 2.5mL [2.5mol/(mol AGU)] Py 和 25.0mL DMAc 的混合溶液中, 再逐滴加入 6.0mL [5mol/(mol AGU)] 2-糠酰氯与 25mL DMAc 的混合溶液, 室温, 反应 5h。反应结束后, 将产物倒入热蒸馏水中, 产物以白色粉末沉淀, 分离, 水洗多次, 甲醇索式抽取 24h, 冷冻干燥, 得产物, DS 2.5。

纤维素三氯乙酸酯^[187]

室温, 将 1.0g (6.2mmol) 纤维素在 20mL (269mmol) TFA 中溶胀 20min, 向上述浆液加入 10mL (72mmol) TFAC, 并在室温下搅拌 4h, 纤维素完全溶解, 继续搅拌 2h, 将溶液倒入 200mL 二乙醚中, 过滤, 以 100mL 二乙醚洗涤, 25℃ 真空干燥 20h, 再在 150℃ 真空干燥 40min, 以去除产物所含的微量二乙醚和三氯乙酸。产物 DS 1.5, FTIR (KBr): $1790\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O)。产物溶于 DMF、DMSO 和 Py。

纤维素甲酸酯^[187]

室温下, 将 1.0g (6.2mmol) 纤维素在 30mL 甲酸中溶胀 15min。5℃, 将 2.7mL POCl₃ 加入上述浆液, 并在室温下搅拌 5h, 纤维素完全溶解, 在 100mL 二乙醚中沉降聚合物, 过滤, 以 350mL 丙酮洗涤三次。室温干燥后, 以 200mL 丙酮再次洗涤, 25℃真空干燥 24h, 产物 DS 2.2。FTIR (KBr): 1728cm⁻¹ ν (C=O)。

纤维素月桂酸酯, 采用 TosCl 原位活化法在 DMAc/LiCl 中均相合成^[127]

向 2.38g (12.5mmol) TosCl 加入 40mL 含 2.5% (质量分数, 6.2mmol) 纤维素和 7.5% LiCl 的 DMAc 溶液, 再在搅拌下加入 2.47g (12.5mmol) 月桂酸。氮气保护下, 80℃反应 24h, 在 800mL 缓冲溶液 (每升水含 7.14g K₂HPO₄ 和 3.54g KH₂PO₄) 中沉降产物, 过滤分离, 以 800mL 水洗涤三遍, 在乙醇中索式抽提 24h, 50℃真空干燥, 产物 DS 1.55。FTIR (KBr): 3486cm⁻¹ ν (OH), 2925cm⁻¹ ν (CH), 2855cm⁻¹ ν (CH), 1238cm⁻¹ ν (COC_{酯基}), 1753cm⁻¹ ν (C=O_{酯基})。13C NMR (CDCl₃): δ=173.8 (C=O), 104.1 (C-1), 102.6 (C-1'), 72.3 (C-2), 73.3 (C-3), 82.0 (C-4), 71.5 (C-5), 20.6~34.0 (C_{亚甲基}), 13.9 (C_{甲基})。

纤维素 3,6,9-三氧癸酸酯, 采用 TosCl 原位活化法在 DMAc/LiCl 中均相合成^[199]

向含 5.0g (30.8mmol) 纤维素、10g LiCl 和 200mL DMAc 的溶液, 加入 TosCl (5.8g, 30.4mmol) 的 DMAc (20mL) 溶液, 室温搅拌 30min, 再向上述溶液加入 11.6g (60.8mmol) TosCl、16.5g (85.8mmol) 3,6,9-三氧癸酸和 40mL DMAc 的混合物, 65℃, 搅拌均相反应 3h。冷却溶液至室温, 再将溶液倒入 1L 异丙醇, 过滤, 异丙醇洗涤, 70℃真空干燥, 得产物, DS 0.62。FTIR (KBr): 3440cm⁻¹ ν (OH), 2920cm⁻¹ ν (CH), 2888cm⁻¹ ν (CH), 1753cm⁻¹ ν (C=O)。13C NMR (D₂O): δ=102.9 (C-1), 100.4 (C-1'), 79.6 (C-3_s, 2_s), 75.9 (C-4), 74.5 (C-4'), 73.5~72.8 (C-2,3,5), 71.6 (C-8), 71.0~68.3 (C-10~C-14), 63.8 (C-6_s), 60.7 (C-6), 58.6 (C-16)。

纤维素 9-羧酸酯, 采用 TosCl 原位活化法在 DMAc/LiCl 中均相合成^[207]

将 2.0g (12.3mmol) 纤维素悬浮于 50mL DMAc, 在干燥环境中, 120℃搅拌 2h, 再将上述体系冷却至 100℃, 加入 3.0g LiCl, 室温, 搅拌, 直到形成清澈溶液。加入 7.03g TosCl, 8.20g (36.9mmol) 9-羧酸, 50℃, 搅拌反应 4h。在 400mL 乙醇中沉降产物, 分离, 以乙醇小心洗涤产物。40℃, 真空干燥, 得产物, DS 0.52。FTIR (KBr): 3422cm⁻¹ ν (OH), 2882cm⁻¹ ν (CH), 1790cm⁻¹ ν (C=O), 1723cm⁻¹ ν (C=O)。1H NMR (DMSO-d₆): δ=7.6~8.2 (H_{芳香})。

纤维素长链羧酸酯, 在 Py 中 TosCl 原位活化法非均相合成^[198]

在氮气保护下, 将 15g (93mmol) 纤维素和 105g (0.551mol) TosCl 搅拌加入到 450g (4.41mol) Py 中, 再缓慢加入有机酸, TosCl : 有机酸为 1 : 1 (mol/mol), 50℃搅拌反应 2h。过滤, 乙醇洗涤, 以甲醇索式抽取 2h, 以新鲜甲醇继续索式抽取 12h, 再以乙醇洗涤纤维, 以压缩空气干燥产物, 再将产物贮存在室温干燥器中 24h, 脱除残余乙醇。产物 DS_{十一碳烯酸酯} 1.11, DS_{癸酸酯} 0.59, DS_{硬酸酯} 0.19, DS_{油酸酯} 0.14。

纤维素苯甲酸酯, 采用 CDI 原位活化法均相合成^[225]

搅拌含 9% LiCl 和溶胀纤维素 (1.6g, 20mmol 羟基) 的 DMAc (50mL) 溶液, 直到纤维素完全溶解, 顺序加入 8.25g (40mmol) DCC、4.88g (40mmol) 苯甲酸和 0.05g (4mmol) DMAP, 反应结束后, 过滤除去二环己基脒, 以甲醇/水混合物 (50/50) 沉降滤液, 甲醇洗涤。此外, 还可以 DMF 稀释滤液, 并在 DMF 中透析, 脱除溶剂, 室温真空干燥, 产物 DS 0.33。FTIR (KBr): 3500~3100cm⁻¹ν (OH), 3000~2900cm⁻¹ν (C—H_{芳香}), 1675~1600cm⁻¹ν (C=O_酯), 1550cm⁻¹ν (C=O_{芳香})。¹H NMR (DMSO-d₆): δ=3.3~5.5 (纤维素的 CH₂ 和 CH), 6.9~8.0 (H_{芳香})。

淀粉聚 (N,N-二甲基氨基乙酸酯), 以 N,N-二异丙基碳二亚胺原位活化法在 DMSO 中均相合成^[227]

向含 1.0g (6.2mmol) 小麦淀粉、0.29g (2.8mmol) N,N-二甲基氨基乙酸的 40.0mL 干燥 DMSO 溶液中, 顺序加入 1.52mL (9.8mmol) N,N-二异丙基碳二亚胺和 0.15g (1.2mmol) DMAP。在氮气保护下, 室温, 搅拌反应过夜。加入 1mL 水淬灭反应, 在 400mL 乙醇中沉降反应产物, 过滤, 丙酮洗涤, 室温真空干燥, 得产物, DS 0.3。¹H NMR (D₂O): δ=2.3 (CH₃), 3.2~5.5 (AGU)。

纤维素硬脂酸酯, 采用 CDI 原位活化法在 DMSO/TBAF 中均相合成^[405]

将 5.24g 硬脂酸 (18.5mmol) 加入含 3.0g CDI (18.5mmol) 的 30mLDMSO 溶液, 搅拌过夜, 加入含有 1.0g 纤维素 (6.2mmol) 的 66mLDMSO/TBAF (10%, 质量密度) 溶液, 氮气保护下, 80℃反应 24h。将反应液倒入 500mL 乙醇, 沉降, 过滤, 以 250mL 乙醇洗涤三次, 50℃真空干燥, 得产物, DS 1.35。FTIR (KBr): 3456cm⁻¹ν (OH), 2926cm⁻¹ν (C—H), 1238cm⁻¹ν (C—O—C_{酯基}), 1743cm⁻¹ν (C=O_{酯基})。 ¹³C NMR (DMSO-d₆): δ=173.5, 172.26 (C=O), 106.0 (C-1), 103.6 (C-1'), 73.2~77.2 (C-2,3,5), 81.8 (C-4), 62.64 (C-6_s), 22.6~33.9 (CH₂硬脂酸酯), 14.0 (CH₃硬脂酸酯)。¹H NMR (CDCl₃): δ=0.90 (CH₃硬脂酸酯), 3.49~5.03 (AGU)。

淀粉苯甲酸酯，在水中与苯甲酸咪唑化合物非均相合成^[138]

将 0.07g (0.4mmol) N-苄基咪唑加入到 1.25mL 含 1.0g (6.2mmol) 淀粉水悬液中，以 3.0% NaOH 调节 pH 至 8.0，在室温下，反应约 2h，直到 pH 不再变化。以稀硫酸酯化淀粉酯，过滤，水洗。产物 DS 0.05。

带羧甲基- β -环糊精基团的纤维素酯，以 CDI 原位活化法在 DMAc/LiCl 均相合成^[234]

室温下，将 β -环糊精-羧甲基钠 (CMCD, DS 0.66, 3.2g, 15mmol) 与 20.0mL 甲醇 HCl 溶液 (20%，体积比) 搅拌反应 20min，羧酸盐部分转化为酸式，分离，甲醇洗涤，室温真空干燥。向含 3.0g 上述 CMCD 的 30.0mL DMAc 溶液，加入含 1.0g (6.2mmol) 纤维素的 DMAc/LiCl 溶液和 10.9mL 含 1.0g (6.2mmol) CDI 的 DMAc 溶液，80℃ 搅拌反应 24h。将混合物倒入 200mL 乙醇，过滤、乙醇水溶液洗涤，室温真空干燥，得产物。FTIR (KBr): 3305 $\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), 2888 $\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), 1724 $\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O_{酯基}), 1655 $\text{cm}^{-1}\nu_{\text{as}}$ (COO_{羧酸盐}), 1426 $\text{cm}^{-1}\nu_{\text{s}}$ (COO_{羧酸盐})。

淀粉脂肪酸酯，在 DMSO 中与脂肪酸咪唑化合物均相反应^[232]

80℃，向含 6.50g (40mmol) 干燥链淀粉玉米 (70% 支链淀粉) 的 80mL 干燥 DMSO 溶液中，加入几滴甲醇 CH₃OK 溶液，搅拌 20min 后，升温至 90℃，1h 内加入 100mL 含 20.0g (80mmol) 月桂酸咪唑的 DMSO 溶液，继续加热反应 3h。将反应混合物倒入 300mL 水沉降，过滤，水洗多次，所得粗产品在高速捣碎机中粉碎，70℃ 用水处理，去除剩余咪唑。55℃ 干燥过夜，用沸腾异己烷萃取纯化粗淀粉酯。DS_{十二酸酯} 1.90, DS_{辛酸酯} 1.55, DS_{棕榈酸酯} 1.66。FTIR (KBr): 3000~2850 $\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), 1740 $\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O)。¹H NMR (CDCl₃): δ = 3.0~6.0 (AGU), 0.8~2.0 (CH₃)。

纤维素硬脂酸酯，在 DMAc/LiCl 中与硬脂酸酐和草酰氯均相反应^[239,520]

氯化亚胺生成反应和羧酸转化反应以“一锅反应”同时进行。-20℃，将 2.35g (18.5mmol) 草酰氯非常小心地加入到 20mL DMF 中，待无气体生成后，加入 5.24g (18.4mmol) 硬脂酸。将上述混合物加入含 1.0g (6.2mmol) 纤维素的 DMAc/LiCl 溶液中，60℃ 加热 16h，反应中发生凝胶化，纤维素酯浮在液面，简单过滤、乙醇洗涤，得纯产物。DS 0.63, FTIR (KBr): 3620 $\text{cm}^{-1}\nu$ (纤维素骨架), 2920 $\text{cm}^{-1}\nu$ (纤维素骨架), 1140 $\text{cm}^{-1}\nu$ (纤维素骨架), 1745~1760 $\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O)。

菊粉丙烯酸酯，与乙烯丙烯酸酯进行酶促酯交换反应^[244]

在 30mg/mL 碱性蛋白酶 Proleathe FP-F 作用下，0.017mol/L (6.7%，质量

密度) 菊粉和 0.48mol 乙烯丙烯酸酯/(mol RU) 在 15mL 无水 DMF 中反应, 合成菊粉酯, 反应混合物在 50℃, 250r/min 转速下振荡, 在新 Brunswick C24 控温轨道摇床上 (Edison, NJ) 反应 72h。在 4000r/min 转速下, 离心分离脱除酶, 中止反应。以丙酮沉降上层清液, 将沉淀溶解于超纯水, 4℃用再生纤维素透析袋 (截留摩尔质量 1000g/mol) 在水中透析, 冷冻干燥 48h, 得产物, DS 0.34。

淀粉 2-O-乙酸酯, 由酶促酯交换反应合成^[245]

80℃, 将 2.0g (12.3mmol) 淀粉 (Hylon VII, 70% 直链淀粉) 溶解于 40mLDMSO, 15min 后冷却, 再加入 2.3mol/(mol AGU) 乙烯基乙酸酯和 40mg (2%, 质量分数) NaCl, 40℃缓慢搅拌下反应 70h。离心分离脱除催化剂, 在 400mL 异丙醇中沉降产物, 过滤, 异丙醇深度洗涤, 50℃真空干燥, 所得产物 2 位 DS 1.00。

纤维素乙酰乙酯, 在 DMAc/LiCl 中通过双烯酮开环反应均相合成^[248]

在连有短程蒸馏装置的圆底烧瓶中, 150℃, 加热 8.0g (49.3mmol) 纤维素和 300mLDMAc 26min, 加入 15g LiCl 后, 将混合物加热至 170℃, 保持 8min, 170℃收集到 77mL 馏分。将反应混合物冷却至室温, 搅拌过夜, 直到形成晶体-清澈溶液。加热溶液至 110℃, 逐滴加入 3.73g (44.4mmol) 双烯酮, 110℃继续搅拌 30min, 冷却到室温后, 用甲醇沉降产物, 过滤, 甲醇索式抽取, 干燥 (DS 0.8)。

纤维素-(4-N-甲氨基) 丁酸酯盐酸盐, 在 NMP/LiCl 中均相合成^[253]

向 25mL 含 1.0% (质量分数) 纤维素和 9% LiCl 的 NMP 溶液加入 1.4mL (17mmol) Py。将含 3.4g (18mmol) TosCl 的 5mLNMP 溶液逐滴加入上述溶液, 反应 12h 后, 用 THF 沉降产物, 在水中水解后, 再沉淀, 干燥, 得产物, DS 0.7。FTIR: 2810cm⁻¹ ν (NH), 1746cm⁻¹ ν (C=O)。¹³C NMR (D₂O): δ = 177.2 (C=O), 50.8, 35.5, 23.3 (CH₂)。

通过内酯开环反应进行普鲁兰酰基化反应^[254]

将 0.5g (3.09mmolAGU, 1.03mmolRU) 加入预先硅烷化的安瓿瓶, 以氯化三甲基硅烷对带磁棒的安瓿瓶硅烷化, 50℃, 真空 (10Torr) 干燥 24h, 在氩气保护下, 移动安瓿瓶, 并用橡胶隔片密封。惰性环境下, 用注射器向安瓿瓶加入 14mLDMSO, 得到 3.5% (质量密度) 普鲁兰溶液。将安瓿瓶置于 55℃的油浴中 35min, 聚合物溶解, 待体系完全均相后, 再加入含 410 μ L (0.08mmol) 辛酸二锡的 DMSO 溶液和 2.0mL (18mmol) 蒸馏 ϵ -己内酯。真空下密封安瓿瓶, 并放在 60℃的油浴中反应 6 天。将产物倒入 150mL 冷甲醇, 过滤, 氯仿索式抽取 48h。

以纤维素乙酸酯膜 (Spectrum Medical 工业公司, 截留摩尔质量 3000g/mol) 在蒸馏水中透析改性多糖 18h, 50℃ 在 P_2O_5 中真空 (1mmHg) 干燥 24h (DS 0.10)。

纤维素苯甲磺酸酯, 在 DMAc/LiCl 中均相合成^[257]

160℃, 将 20.2g (118.7mmol) 空气干燥的纤维素 (Avicel®) 在 470mLDMAc 中浆化 1h。在氮气保护下, 蒸馏脱除约 40mLDMAc。100℃加入 40g 无水 LiCl, 室温搅拌, 聚合物完全溶解。将纤维素溶液冷却到 8℃, 加入 40.6mLDMAc 和 59.4mL (427mmol) TEA 的混合物, 再在 30min 内加入 60mL 含 40.7g (213mmol) TosCl 的 DMAc 溶液, 继续搅拌, 均相反应 24h。以 5L 冰水沉降聚合物, 分离, 再以 15L 蒸馏水仔细洗涤; 将聚合物悬浮于 1L 丙酮中, 以 3L 蒸馏水沉降, 过滤, 乙醇洗涤, 50℃ 真空干燥, 得产物, DS_{Tos} 1.36。聚合物可溶解于乙酰丙酮、DMSO、DMA、DMF 和二氧六环。FTIR (KBr): $3523cm^{-1}\nu$ (OH), $3072cm^{-1}\nu$ (C—H_{芳香}), $2891cm^{-1}\nu$ (C—H), $1598cm^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1500cm^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1453cm^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1364cm^{-1}\nu_{as}$ (SO₂), $1177cm^{-1}\nu_s$ (SO₂), $814cm^{-1}\delta_s$ (C—H_{芳香})。 ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta = 21.2$ (CH₃), 59.0~101.4 (纤维素骨架), 127.8~145.1 (C_{芳香})。

甲壳素苯甲磺酸酯, 在 Py 中非均相合成^[103]

将 10mL 乙酸酐加入 20mL 含 0.20g (1.0mmol) β -甲壳素 (鱿鱼, DDA0.16) 的甲醇悬浮液中, 在氮气保护下, 40℃ 搅拌反应 48h, 将所得溶胀混合物倒入冰水, 以分离 N-乙酰甲壳素, 过滤, 以水和丙酮洗涤, 干燥, 得到定量的白色纤维状产物, 电导滴定法和元素分析测定, 得 DDA0.0。FTIR (KBr): $3434cm^{-1}\nu$ (OH 和 NH), $1655cm^{-1}\nu$ (酰胺 I), $1588cm^{-1}\nu$ (酰胺 II), $1155\sim 1030cm^{-1}\nu$ (吡咯糖)。

元素分析: 由 $C_8H_{13}NO_5 \cdot 1.1H_2O$, 理论值: 43.9% C, 6.87% H, 6.38% N; 实测值: 43.01% C, 6.60% H, 6.22% N。

将 0.201g 上述产物 β -甲壳素 (DDA0.0) 悬浮于 10mL Py, 向上述悬浮液加入 1.9g [10mol/(mol 重复单元)] TosCl 和 2.0g DMAP 中, 在氮气保护下, 室温搅拌 48h, 得浅黄色混合物, 将所得产物倒入冰水, 收集沉淀, 水、乙醇洗涤, 干燥, 得产物, DS 0.83。FTIR (KBr): $3418cm^{-1}\nu$ (OH 和 NH), $1655cm^{-1}\nu$ (酰胺 I), $1587cm^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1543cm^{-1}\nu$ (酰胺 II), $1176cm^{-1}\nu_s$ (SO₂), $1120\sim 1032cm^{-1}\nu$ (吡咯糖), $815cm^{-1}\delta$ (C—H_{芳香})。

甲壳素苯甲磺酸酯, 在 DMAc/LiCl 中均相合成^[276]

将 3.0g (14.8mmol) 甲壳素 (DDA0.4) 置于带氮气进出口和磁力搅拌的 500mL 三口烧瓶中, 加入 100mL 含 5% (质量分数) LiCl 的 DMAc 溶液, 10℃ 在氮气保护下, 搅拌 20min。向 10mL 甲壳素溶液 (实含 0.3g 甲壳素), 顺序加入

7.2mLTEA (51.9mL)、10mL 含 9.86g (51.4mmol) TosCl 的 DMAc 溶液, 10℃, 搅拌混合物 24h, 在冷水中沉降聚合物, 过滤, 真空干燥, 得产物, DS_{Tos} 1.07。元素分析: 47.87% C, 5.43% H, 3.89% N, 9.48% S。

纤维素 5-*N,N*-二甲基氨基-1-萘磺酸酯, 在 DMAc/LiCl 中均相合成^[263]

在 30mLDMAc 中浆化 2.0g (12.3mmol) 纤维素 (Avicel®), 130℃ 加热 1h, 待混合物冷却至 100℃ 后, 再加入 3.0g LiCl, 在无加热状态下, 搅拌溶解聚合物。将混合物冷却至 10℃ 后, 逐滴加入 5.16mL (37.0mmol) TEA 与 10mLDMAc 的混合物, 再加入 15mL 含 5.0g (18.5mmol) 5-*N,N*-二甲基氨基-1-萘磺酰氯的 DMAc, 继续搅拌反应 24h。将产物倒入 500mL 甲醇, 过滤, 水和甲醇洗涤。将产物溶解于 DMF, 再用甲醇沉降, 室温真空干燥, 产物 DS 0.67。元素分析: 6.75% S。产物可溶于 DMAc、DMF、DMSO 和 Py。FTIR (KBr): $3465\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), $3085\text{cm}^{-1}\nu$ (C—H_{芳香}), $2949\text{cm}^{-1}\nu$ (CH₃), $2889\text{cm}^{-1}\nu$ (CH₃), $2836\text{cm}^{-1}\nu$ (CH₂), $2791\text{cm}^{-1}\nu$ (N—CH₃), $1358\text{cm}^{-1}\nu_{as}$ (SO₂), $1177\text{cm}^{-1}\nu_s$ (SO₂)。 ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ = 45.6, 46.8 (C-17), 61.1 (C-6), 67.9 (C-6_s), 75.6 (C-5), 77.1 (C-4'), 79.0 (C-4), 83.0 (C-3_s), 75.6 (C-3), 80.4 (C-2_s), 72.6 (C-2), 98.5 (C-1'), 103.2 (C-1), 116.3~151.0 (C-7~C-16)。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ = 2.88~2.89 (CH₃), 7.29~8.58 (H_{芳香})。

纤维素硫酸半酯, 由三甲基硅基纤维素合成^[521]

先将 15.6g (42mmol) 三甲基硅基纤维素溶于 360mL 干燥 THF, 再将 17.36g (113mmol) SO₃-DMF 复合物溶于 100mL 干燥 DMF, 所得溶液加入上述纤维素溶液中, 室温搅拌 2.5h; 再将混合物倒入 2L 含 10.7g (267mmol) NaOH 的甲醇溶液, 过滤沉淀, 用甲醇仔细洗涤, 再将沉淀溶解于 500mL 水中, 乙醇再沉淀, 50℃ 真空干燥, 得产物, DS 1.13。FTIR (KBr): $1240\text{cm}^{-1}\nu$ (SO₂), $806\text{cm}^{-1}\nu$ (SO)。 ¹³C NMR (D₂O): δ = 102.8 (C-1), 100.9 (C-1'), 79.0~73.3 (C-2,3,4,5), 66.9 (C-6_s)。

纤维素硫酸半酯, 由纤维素乙酸酯合成^[186]

60~80℃, 将 2.0kg (7.40mol, DS 2.5) 纤维素乙酸酯溶于 20L 干燥 DMF, 减压蒸馏出 5 L DMF, 脱除残余水分, 冷却至 20℃ 后, 将溶于 4 L 干燥 DMF 的 1.05 kg (9.01mol) ClSO₃H 逐滴加入上述溶液, 搅拌继续反应 2h, 加入等量溶于水/DMF 混合物的乙酸钠三水合物后, 在 80L 乙酸钠溶液 (5%, 质量密度) 中沉降聚合物。20℃, 产物用含 800g NaOH、1.5 L 水和 20L 乙醇的混合物浆化, 分离, 90% 乙醇洗涤, 96% 乙醇再次洗涤, 80℃ 干燥至恒重, 得产物, DS 0.32。元素分析: 5.2% S, 6.12% Na。

2,3-O-改性纤维素硫酸半酯, 通过 6-O-被保护纤维素合成^[439]

6-单-O-(4-单甲氧基) 三苯甲基纤维素

将 6.0g (14mmol) 6-单-O-(4-单甲氧基) 三苯甲基纤维素 (DS 0.98) 溶解于 150mL DMSO 中, 向上述溶液加入 8.9g (55.9mmol) $\text{SO}_3\text{-Py}$ 复合物, 室温搅拌 4.5h, 在 500mL 甲醇中沉降聚合物, 再用 NaOH 的乙醇溶液中和, 乙醇洗涤, 50℃ 真空干燥, 得产物, DS 0.99。

去三苯甲基反应

向悬浮于 250mL 甲醇的 2.0g 6-单-O-(4-单甲氧基) 三苯甲基纤维素硫酸半酯, 加入 12.0mL 浓盐酸, 搅拌混合物 16h, 过滤, 将产物悬浮于水中, 再以 NaOH 溶液中和, 得溶液, 乙醇沉降, 50℃ 真空干燥, 得产物, DS 0.99。FTIR (KBr): $815\text{cm}^{-1}\nu$ ($\text{S}=\text{O}$)。 ^{13}C NMR (D_2O): $\delta=102.4$ (C-1'), 100.3 (C-1), 82.3 (C-3_s), 79.2~78.1 (C-4,4'), 75.3~73.0 (C-2,3,5), 60.2 (C-6)。

纤维素磷酸酯, 在异丙醇中非均相反应^[351]

25℃, 将 10g (62mmol) 纤维素加入到 232g 85% H_3PO_4 、128g (0.902mol) P_2O_5 和 120g 异丙醇的混合物中。72h 后, 离心分离纤维素磷酸酯, 并以异丙醇洗涤。将产物在 175g 甲醇、75g 水和 15g 乙酸钠混合物中搅拌 20min 后, 过滤, 以 500g 甲醇/水 (3/1, 质量比) 洗涤三遍, 干燥, 得产物, DS 0.26。元素分析: 4.5% P。

淀粉磷酸酯, 交联淀粉磷酸酯的非均相合成^[523]

将 2.5g (15.4mmol) 淀粉和 15.0mL Py 混合, 蒸馏去除 5mL Py, 室温下, 再顺序加入 15.0mL Py、1.9mL (20.8mmol) POCl_3 , 混合物在 70℃ 反应 3h。冷却至室温后, 过滤, 水洗, 向聚合物的水浆液中加入 5.8% NaOH 溶液, 直到 pH 8.0, 此时产物由酸式转化为钠盐, 洗涤、干燥, 得产物, DS 0.92。

纤维素硝酸酯, 在 N_2O_4 /DMF 中均相合成^[369]

将 N_2O_4 鼓泡通入 DMF, 直到 N_2O_4 浓度达到 3%。将 100mL 上述溶液加入到 1.0g 纤维素中, 室温, 聚合物在 15min 内溶解, 继续在 70℃ 搅拌反应 3h, 冷却至室温。搅拌下以 3 倍体积的甲醇沉降产物, 过滤, 甲醇洗涤, 再以丙酮洗涤, 50℃ 真空干燥。产物 (DS 0.55) 溶于水。FTIR: $1660\text{cm}^{-1}\nu$ (NO_2)。

纤维素硝酸酯, 以 HNO_3 / H_3PO_4 为硝化剂^[366]

0℃, 搅拌下, 小心地将 1.6g P_2O_5 加入到 40.0g 冷的 90% 硝酸中, 得硝酸混合酸, 几小时后, 以玻璃绒过滤混合酸, 并升温至室温。加入 1.0g (6.2mmol) 纤维素, 反应 20min, 每 5min 摇晃一次。过滤, 将产物倒入冷

(10℃) 蒸馏水, 搅拌一阵后, 用粉末 Na_2CO_3 中和, 水洗产物三次; 在蒸馏水中煮沸 20min, 过滤; 在 50mL 甲醇中浸泡 10min, 过滤; 50℃ 干燥, 得产物, DS 2.9~3.0。

纤维素三硝酸酯, 同型聚合物合成^[368]

在烧杯中混合 20mL 白色发烟硝酸和 20mL 二氯甲烷, 冷却至 0℃。加入 0.75g (4.6mmol) 干燥纤维素, 偶尔搅拌, 保存混合物 30min (对于可水解的纤维素粉末, 高 DP 棉短线的反应时间需延长至 90min)。用烧结玻璃过滤坩埚过滤纤维状的纤维素三硝酸酯, 以 CH_2Cl_2 洗涤三遍, 再以甲醇洗涤三遍, 40~50℃ 的水洗一遍, 最后以甲醇洗涤, 20℃ 真空干燥, 得纤维素三硝酸酯。产物 DS 3.0。

纤维素糠酸酯的全丙酰化反应^[234]

向 0.3g 纤维素糠酸酯中加入 6mL Py、6mL 丙酸酐和 50mg DMAP 的混合物, 在 80℃ 反应 24h 后, 将反应物冷却至室温, 以 50mL 乙醇沉降。将所得产物溶于氯仿, 再以 50mL 乙醇沉降, 以进一步纯化; 过滤, 乙醇洗涤, 室温真空干燥。DS_{糠酸酯} 1.49, DS_{丙酰基} 1.50。FTIR (KBr): 无 $\nu(\text{OH})$, $2910\text{cm}^{-1} \nu(\text{CH})$, $2854\text{cm}^{-1} (\text{C}=\text{O}_{\text{酯基}}) \nu(\text{CH})$, $1758\text{cm}^{-1} (\text{C}=\text{O}_{\text{酯基}}) \nu(\text{C}=\text{O}_{\text{酯基}})$, $1737\text{cm}^{-1} \nu(\text{C}=\text{O}_{\text{酯基}})$ 。¹³C NMR (DMSO- d_6): $\delta = 173.9 \sim 173.1 (\text{C}=\text{O}_{\text{丙酰基}})$, 157.3 ($\text{C}=\text{O}_{\text{糠酸酯}}$), 147.5~112.2 (呋喃环), 100.6~62.6 (改性 RU), 27.2~9.4 (CH_3 -丙酸酯)。¹H NMR (CDCl_3): $\delta = 7.56 (\text{H-11})$, 7.20 (H-9), 6.50 (H-10), 5.00 (H-3), 4.85 (H-2), 4.42 (H-1), 4.38 和 4.08 (H-6), 3.66 (H-4), 3.53 (H-5), 2.04 (CH_2 -丙酸酯), 1.06, 1.03 (CH_3 -2,3-丙酸酯)。

多糖酯的全甲基化改性^[419]

在超声波作用下, 将 5mg 多糖酯溶于 2mL 三甲基磷酸酯, 再加入 15mol/mol 不含 OH 的 2,6-二叔丁基吡啶和 20mol/mol 不含 OH 的三氟甲基磺酸甲酯, 用超声波处理 4h (直到温度达 60℃)。加入氯仿和水, 搅拌, 分离, 水洗涤氯仿相六遍, 以 Sephadex-LH 20 柱分离纯化全甲基化多糖酯, 丙酮为淋洗液。产物 DS 3.0。

6-单-O-(4-单甲氧基) 三苯甲基纤维素, 在 DMAc/LiCl 中均相合成^[433]

150℃, 搅拌 1.0g (6.2mmol) 纤维素和 100mL DMAc 的混合物 30min, 100℃ 时加入 LiCl, 搅拌过夜。室温, 搅拌, 10min 内共加入 2.2mL 干燥 Py, 20min 内再加入 5.7g (18.5mmol) 溶于 50mL DMAc 的 4-单-甲氧基三苯基氯, 70℃ 反应 24h。在甲醇中沉降产物, 过滤; 将产物溶于 DMF, 在甲醇中再沉降, 分离、干燥, 产物 DS 0.98。

在 DMAc/LiCl 中合成 2, 6-二-O-二甲基 (2,3-二甲基丁基) 硅烷化纤维素^[446]

将 30.0g (185mmol) 纤维素悬浮于 750DMAc 中, 120℃ 搅拌 2h; 冷却至 100℃, 加入 45.0g LiCl, 室温, 搅拌至聚合物完全溶解。将 60.4g (888mmol) 咪唑加入上述溶液, 25min 内共加入 154.4mL (741mmol) TDMSCl, 100℃, 搅拌反应 24h, 将混合物倒入 1L 磷酸缓冲溶液 (1L 蒸馏水中含 7.14g K_2HPO_4 和 3.54g KH_2PO_4), 过滤沉淀, 用 5L 蒸馏水洗涤, 再以 2L 乙醇洗涤, 100℃ 真空干燥 12h, 得产物, DS 2.0。FTIR (KBr): $3500\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), $2961\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), $2873\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), $1467\text{cm}^{-1}\nu$ (CH_2 , CH_3), $1379\text{cm}^{-1}\nu$ (CH_3), $1252\text{cm}^{-1}\nu$ (Si—C), $1120\text{cm}^{-1}\nu$ (C—O—C_{AGU}), $1078\text{cm}^{-1}\nu$ (C—O—C_{AGU}), $1038\text{cm}^{-1}\nu$ (C—O—C_{AGU}), $834\text{cm}^{-1}\nu$ (Si—C), $777\text{cm}^{-1}\nu$ (Si—C)。

在 NMP/NH₃ 中合成 6-单-O-甲基 (2, 3-二甲基丁基) 硅基纤维素^[524]

将 16.2g (100mmol) 纤维素悬浮于 65mLNMP 中, 80℃, 搅拌混合物 1h。将混合物冷却至 -25℃, 加入 80mL 被氨水饱和的 NMP, 搅拌混合物 1h, 再逐滴加入溶于 40mLNMP 的 39.25mL (200mmol) TDMSCl 溶液, -25℃ 搅拌 45min, 再将混合物缓慢升温至 40℃, 保温过夜, 再在 80℃ 搅拌 6.5h。将高黏度的产物溶液倒入 4L 缓冲溶液 (pH 7), 过滤聚合物, 水洗涤, 在 <0.1Torr、KOH 存在下, 由 25℃ 持续升温至 80℃, 小心干燥; 可将产物溶解于 NMP, 在缓冲溶液中沉降, 洗涤, 进一步纯化, 干燥, 得产物, DS 0.7。

在 DMAc/LiCl 中合成 2-O-甲苯磺酰基淀粉^[259]

向含 2.5g (15.4mmol) 淀粉的 4.3% (质量密度) DMAc/LiCl 溶液, 搅拌加入 7.4mL (53.4mmol) TEA 和 5.0mLDMAc 的混合物。冷却至 8℃, 在 30min 内逐滴加入溶于 7.4mLDMAc 的 5.9g (30.8mmol) TosCl, 8℃, 继续搅拌均相反应 24h, 反应完成后, 将混合物缓慢倒入 700mL 冰水, 过滤, 用 2.3L 蒸馏水和 250mL 乙醇小心洗涤。将产物溶解于 120mL 丙酮, 在 370mL 蒸馏水再沉降, 过滤、乙醇洗涤, 60℃ 真空干燥 8h。产物 (DS 1.35) 可溶于丙酮、DMSO、DMF、THF 和二氧六环。FTIR (KBr): $3488\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), $3064\text{cm}^{-1}\nu$ (C—H_{芳香}), $2943\text{cm}^{-1}\nu$ (CH), $1599\text{cm}^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1495\text{cm}^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1453\text{cm}^{-1}\nu$ (C—C_{芳香}), $1362\text{cm}^{-1}\nu$ (C—H_{芳香}), $1362\text{cm}^{-1}\nu_{\text{as}}$ (SO_2), $1176\text{cm}^{-1}\nu_{\text{s}}$ (SO_2), $811\text{cm}^{-1}\delta$ (C—H_{芳香}); ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta=21.1(\text{CH}_3)$, 59.8~93.7 (淀粉骨架), 128.0~144.8 (C—H_{芳香}); ^1H NMR (DMSO- d_6): $\delta=2.4(\text{CH}_3)$, 3.4~5.6 (淀粉骨架), 7.4~7.8 (H_{芳香})。

负载齐多夫定的凝胶多糖, 在 DMSO 中均相合成^[490]

将 0.14g [0.61mol/(mol AGU)] 3-叠氮-3-脱氧-5-琥珀酰-胸苷和 0.10g

DMAc, 加入到溶于 3mLDMSO 的 0.10g (0.62mmol) 凝胶多糖中, 在 30min 内逐渐加入 0.30g DCC, 室温, 搅拌反应 48h, 加入丙酮直到聚合物沉降, 离心分离, 分别以 30mL 丙酮和 30mL 水洗涤两次, 冷冻干燥, 得白色粉末状负载齐多夫定的凝胶多糖, DS 0.20。 ^{13}C NMR (D_2O): δ 172 ($\text{C}=\text{O}$), 64 (凝胶多糖的 C-6' 和 C-5'), 28 (CH_3)。

纤维素 3-(2-呋喃基) 丙烯酸酯, 以 CDI 原位活化法在 DMAc/LiCl 中均相合成^[234]

向溶于 20mLDMAc 的 4.3g (31.0mmol) 3-(2-呋喃基) 丙烯酸溶液, 加入 5.0g (31.0mmol) CDI, 40℃, 搅拌 24h, 再加入 1g (6.2mmol) 纤维素的 DMAc/LiCl 溶液, 以铝箔覆盖反应器, 60℃ 搅拌 24h。在 250mL 乙醇中沉降产物, 过滤, 以 100mL 乙醇洗涤三次, 45℃ 真空干燥, 产物 DS 1.14。FTIR (KBr): $3490\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), $3132\text{cm}^{-1}\nu$ (C—H_{呋喃}), $2932\text{cm}^{-1}\nu$ (C—H), $1711\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O_{酯基}), $1579\text{cm}^{-1}\nu$ (呋喃环), $1233\text{cm}^{-1}\nu$ (C—O—C_{酯基})。 ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ = 165.3 (C=O), 150.1 (C-10), 145.8 (C-9, 13), 131.6 (C-8), 116.5 (C-12), 112.5 (C-11), 102.9 (C-1), 99.8 (C-1), 72.3 (C-2), 73.9 (C-3), 80.2 (C-4), 76.3 (C-5), 63.1 (C-6_s), 60.2 (C-6)。 ^1H NMR (全丙酰化衍生物溶于 CDCl_3): δ = 7.82 (H-11), 7.50 (H-8), 6.87 (H-9), 6.57 (H-10), 6.23 (H-7), 5.56 (H-1), 5.00 (H-3), 4.85 (H-2), 4.38 和 4.08 (H-6), 3.66, 3.63 (H-4,5), 2.04 (CH_2 -丙酰基), 0.77, 0.93 (CH_3 -2,3-丙酰基)。

纤维素 4'-羧基-18-冠-6-醚, 以 CDI 原位活化法均相合成^[234]

向 20mL 含 5g (14.1mmol) 4'-碳酸苯并-18-冠-6-醚的 DMAc 溶液, 加入含 2.31g (14.1mmol) CDI 的 20mLDMAc 溶液, 室温搅拌 24h。将上述混合物加入到 1.0g (6.2mmol) 纤维素的 DMAc/LiCl 溶液中, 在氮气气氛下, 70℃, 搅拌均相反应 24h。在 250mL 乙醇中沉降产物, 过滤, 以 100mL 乙醇洗涤三遍, 45℃ 真空干燥, 产物 DS 0.4。FTIR (KBr): $3410\text{cm}^{-1}\nu$ (OH), $1714\text{cm}^{-1}\nu$ (C=O_酯), $1599\text{cm}^{-1}\nu$ (苯环伸缩)。 ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ = 165.8 (C=O), 113.3, 114.8, 148.5, 153.3 (C_{芳香}), 103.2 (C-1), 80.5 (C-4), 73.2~77.2 (C-2, 3, 5), 69.3, 70.4 (冠醚 CH_2), 62.4 (C-6_s), 60.9 (C-6)。 ^1H NMR (全丙酰化衍生物溶于 CDCl_3): δ = 6.89~7.55 (H_{芳香}, H-9, 10, 13), 5.00 (H-3), 4.85 (H-2), 4.38 和 4.08 (H-6), 3.66, 3.63 (H-4,5), 4.14 (H-14), 3.87 (H-15), 3.44~3.69 (H-16~H-18), 2.04 (CH_2 -丙酰基), 0.77~1.17 (CH_3 -丙酰基)。

淀粉酶解^[130]

回流煮沸 1.7 L 水 (PA 纯, FLUKA) 1h, 冷却至室温, 在剧烈搅拌下缓慢加

入 60g (370mmol) 淀粉 (预胶凝玉米淀粉, 国民淀粉有限公司), 加热回流 1h。室温, 搅拌过夜, 再恒温 37℃, 加入 0.5g CaCl₂ 和 0.005g (130U/L) 直链淀粉酶, 酶解 130min 后, 升温至 110℃, 保持 20min, 使酶失活。旋转蒸发脱除大部分水, 透析, 冷冻干燥。产物 M_w 4.60×10^4 g/mol。

壳聚糖降解^[70]

将 100mg 壳聚糖溶于 10mL 0.07mol/L HCl, 室温, 振荡过夜, 再加入 3mg NaNO₂, 室温下保存 4h, 冷冻干燥。

通过皂化反应测定多糖酯的取代度^[525]

室温, 将 0.5g 干燥多糖酯在 25mL 丙酮/水混合物 (1:1, 体积比) 中溶胀 24h, 加入 12.5mL 1mol/L KOH 乙醇溶液, 室温搅拌 24h。以酚酞为指示剂, 用 0.5mol/L HCl 滴定过量碱。加入 2mL 0.5mol/L 过量 HCl, 24h 后以 0.5mol/L NaOH 返滴定。由滴定结果, 可计算酯基在皂化反应中消耗的总碱量 (以 mol 表示), 根据下式计算:

$$DS_{酯} = \frac{n(KOH)M_r(RU)}{m_s - M_r(RCO)n(KOH)}$$

式中 $n(KOH)$ ——酯基在皂化反应中所消耗的总碱量, mol;

$M_r(RU)$ ——RU 的摩尔质量, 葡聚糖为 162g/mol;

m_s ——样品质量, g;

$M_r(RCO)$ ——引入酯基的摩尔质量, g/mol。

参考文献

1. Bogan RT, Brewer RJ (1985) Cellulose esters, organic, survey. In: Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G, Kroshwitz JI (eds) Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. John Wiley & Sons, New York, pp 158
2. Serad GA (1985) Cellulose esters, organic, fibres In: Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G, Kroshwitz JI (eds) Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. John Wiley & Sons, New York, pp 200
3. Müller F, Leuschke C (1996) Organic cellulose esters, thermoplastic molding compounds. In: Bottenbruch L (ed) Engineering Thermoplastics: Polycarbonates-Polyacetals-Polyesters-Cellulose Esters. Hanser Publ., Munich, pp 385
4. Kennedy JF, Griffiths AJ, Philp K, Stevenson DL, Kambanis O, Gray CJ (1989) Carbohydr Polym 11: 1
5. Pelletier S, Hubert P, Lapique F, Payan E, Dellacherie E (2000) Carbohydr Polym 43: 343
6. Klemm D, Schmauder H-P, Heinze T (2002) Cellulose. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharides II, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp 275
7. Nakata M, Kawaguchi T, Kodama Y, Konno A (1998) Polymer 39: 1475
8. Giavasis I, Harvey LM, McNeil B (2002) Scleroglucan. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharides II, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp 37
9. Rau U (2002) Schizophyllan. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharides II, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp 61
10. Misaki A, Kishida E, Kakuta M, Tabata K (1993) Antitumor fungal (1-3)- β -D-glucans: structural diversity and effects of chemical modification. In: Yalpani M (ed) Carbohydrates and Carbohydrate Polymers. ALT Press, Mount Prospect, IL, pp 116
11. Huynh R, Chaubet F, Jozefonvicz J (1998) Angew Makromol Chem 254: 61
12. Shingel KI (2004) Carbohydr Res 339: 447
13. Shogren RL (1998) Starch: Properties and Material Applications. In: Kaplan DL (ed) Biopolymers from Renewable Resources. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp 30
14. Ebringerová A, Heinze T (2000) Macromol Rapid Commun 21: 542
15. Maier H, Anderson M, Karl C, Magnuson K, Whistler RL (1993) Guar, locust bean, tara, and fenugreek gums. In: BeMiller JN, Whistler RL (eds) Industrial gums. Polysaccharides and their derivatives, 3th ed, Academic Press, San Diego, pp 181
16. Franck A, De Leenheer L (2002) Inulin. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharide II, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp 439
17. Roberts GAF (1992) Chitin Chemistry. The Macmillan Press Ltd, London, pp 185
18. Sabra W, Deckwer W-D (2005) Alginate - A polysaccharide of industrial interest and diverse biological functions. In: Dumitriu S (ed) Polysaccharides. Structural diversity and functional versatility. 2nd ed., Marcel Dekker. New York, pp 515
19. Dumitriu S (2005) Polysaccharides. Structural diversity and functional versatility. 2nd ed, Marcel Dekker, New York
20. Vandamme EJ, De Baets S, Steinbüchel A (2002) Biopolymers. Polysaccharides I and II, Vol. 5 and 6,

Wiley-VCH, Weinheim

21. Kaplan DL (1998) Biopolymers from renewable resources, Springer, Berlin
22. Ebert G (1993) Biopolymere; Struktur und Eigenschaften, Teubner, Stuttgart
23. Klemm D, Philipp B, Heinze T, Heinze U, Wagenknecht W (1998) Comprehensive Cellulose Chemistry, Vol. I and II, Wiley VCH, New York
24. O'Sullivan AC (1997) Cellulose 4: 173
25. Lai Y-Z (1996) Reactivity and accessibility of cellulose, hemicelluloses, and lignins. In: Hon DN-S (ed) Chemical modification of lignocellulosic materials. Marcel Dekker, New York, pp 35
26. Philipp B (1993) J Macromol Sci Pure Appl Chem A30: 703
27. Heinze T, Dicke R, Koschella A, Kull AH, Klohr E-A, Koch W (2000) Macromol Chem Phys 201: 627
28. Tarchevsky IA, Marchenko GN (1991) Cellulose: Biosynthesis and Structure, Springer-Verlag, Berlin
29. Lee I-Y (2002) Curdlan. In: Vandamme EJ, De Baets S, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharide I, Volume 5, Wiley-VCH, Weinheim, pp 135
30. Rau U, Mueller RJ, Cordes K, Klein J (1990) Bioprocess Eng 5: 89
31. Taylor C, Cheetham NWH, Walker GJ (1985) Carbohydr Res 137: 1
32. Leathers TD (2002) Dextran. In: Vandamme EJ, De Baets S, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharide I, Volume 5, Wiley-VCH, Weinheim, pp 299
33. Vandamme EJ, Bruggeman G, De Baets S, Vanhooren PT (1996) Agro-Food-Ind Hi-Tech 7: 21
34. Leathers TD (2002) Pullulan. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) Biopolymers. Polysaccharide II, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp 1
35. Dais P, Vlachou S, Taravel FR (2001) Biomacromolecules 2: 1137
36. Lindblad MS, Albertsson A-C (2005) Chemical modification of hemicelluloses and gums. In: S. Dumitriu (ed) Polysaccharides. Structural diversity and functional versatility, 2nd ed., Marcel Dekker, New York, pp 491
37. Stevens CV, Meriggi A, Booten K (2001) Biomacromolecules 2: 1
38. Peter MG (2002) Chitin and chitosan from animal sources. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds), Biopolymers: Polysaccharide II, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp 481
39. Valla S, Ertesvåg H, Skjåk-Bræk G (1996) Carbohydr Eur 14: 14
40. Dische Z (1962) Color reactions of carbohydrates. In: Whistler RL, Wolfrom ML (eds) The carbohydrates: Chemistry and Biochemistry, Vol. IB. Academic Press, New York, pp 475
41. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Anal Chem 28: 350
42. Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G (1973) Anal Chem 54: 484
43. Lever M (1972) Anal Chem 47: 273
44. Updegraff DM (1969) Anal Chem 32: 420
45. Jiang X, Chen L, Zhong W (2003) Carbohydr Polym 54: 457
46. Kostromin AI, Abdullin IF, Ibeneeva RM (1982) Zavod Lab 48: 16
47. Hsiao H-Y, Tsai C-C, Chen S, Hsieh B-C, Chen RLC (2004) Macromol Biosci 4: 919
48. Fengel D, Ludwig M (1991) Papier 45: 45
49. Mackie W (1971) Carbohydr Res 20: 413
50. Jayme G, Tio PK (1968) Papier 22: 322
51. Kath F, Kulicke W-M (1999) Angew Makromol Chem 268: 69
52. Mais U, Sixta H (2004) Characterization of alkali-soluble hemicelluloses of hardwood dissolving pulps. In: Gatenholm P, Tenkanen M (eds) Hemicelluloses: Science and Technology. ACS Symposium Series 864, American Chemical Society, Washington-DC, pp 94
53. Zou Y, Khor E (2005) Biomacromolecules 6: 80

54. Kulicke W-M, Otto M, Baar A (1993) *Makromol Chem* 194: 751
55. Kim Y-T, Kim E-H, Cheong C, Williams DL, Kim C-W, Lim S-T (2000) *Carbohydr Res* 328: 331
56. Bociek SM, Izzard MJ, Morrison A, Welti D (1981) *Carbohydr Res* 93: 279
57. McIntyre DD, Vogel HJ (1993) *Starch/Staerke* 45: 406
58. Gagnaire D, Vignon M (1977) *Makromol Chem* 178: 2321
59. Grasdalen H, Larsen B, Smidsrød O (1981) *Carbohydr Res* 89: 179
60. Høidal HK, Ertesvåg H, Skjåk-Bræk G, Stokke BT, Valla S (1999) *J Biol Chem* 274: 12316
61. Atalla RH, VanderHart DL (1984) *Science (Washington DC)* 223: 283
62. Isogai A, Usuda M, Kato T, Uryu T, Atalla RH (1989) *Macromolecules* 22: 3168
63. Nehls I, Wagenknecht W, Philipp B, Stscherbina D (1994) *Prog Polym Sci* 19: 29
64. Hasegawa M, Isogai A, Onabe F, Usada M (1992) *J Appl Polym Sci* 45: 1857
65. Flugge LA, Blank JT, Petillo PA (1999) *J Am Chem Soc* 121: 7228
66. Cheetham NWH, Fiala-Beer E (1990) *Carbohydr Polym* 14: 149
67. Tsai PK, Frevert J, Ballou CE (1984) *J Biol Chem* 259: 3805
68. Grasdalen H, Larsen B, Smidsrød O (1979) *Carbohydr Res* 68: 23
69. Grasdalen H (1983) *Carbohydr Res* 118: 255
70. Vårum KM, Anthonsen MW, Grasdalen H, Smidsrød O (1991) *Carbohydr Res* 211: 17
71. Kiemle DJ, Stipanovic AJ, Mayo KE (2004) Proton NMR methods in the compositional characterization of polysaccharides. In: Gatenholm P, Tenkanen M (eds) *Hemicelluloses: Science and Technology*. ACS Symposium Series 864, American Chemical Society, Washington, DC pp. 122
72. Hounsell EF (1995) *Prog Nucl Magn Resonan Spectrosc* 27: 445
73. Skjåk-Bræk G, Grasdalen H, Larsen B (1986) *Carbohydr Res* 154: 239
74. Grasdalen H, Kvam BJ (1986) *Macromolecules* 19: 1913
75. Knutson CA, Jeanes A (1968) *Anal Biochem* 24: 482
76. Grasdalen H, Larsen B, Smidsrød O (1979) Uronic acid sequence in alginates by carbon-13 nuclear magnetic resonance, *Proceedings International Seaweed Symposium Vol. Date 1977*, 9: 309
77. Honda S, Suzuki S, Takahashi M, Kakehi K, Ganno S (1983) *Anal Biochem* 134: 34
78. Cheetham NWH, Sirimanne P (1983) *Carbohydr Res* 112: 1
79. Annison G, Cheetham NWH, Couperwhite I (1983) *J Chromatogr* 264: 137
80. Franz G (1991) *Polysaccharide*. Springer, Berlin
81. Hakomori S (1964) *J Biochem* 55: 205
82. D'Ambra AJ, Rice MJ, Zeller SG, Gruber PR, Gray GR (1988) *Carbohydr Res* 177: 111
83. Biermann J, McGinnis GD (1989) *Analysis of Carbohydrates by GLC and MS*. CRC Press, Boca Raton
84. Dahlman OB, Jacobs A, Nordstroem M (2004) Characterization of hemi-celluloses from wood employing matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. In: Gatenholm P, Tenkanen M (eds) *Hemicelluloses: Science and Technology*. ACS Symposium Series 864, American Chemical Society, Washington, DC pp 80
85. Tanghe LJ, Brewer RJ (1955) *Anal Chem* 40: 350
86. March J (1992) *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. 4th ed, Wiley Interscience New York, pp 170
87. Jarowenko W (1987) Acetylated starch and miscellaneous organic esters. In: Wurzburg OB (ed) *Modified starches: Properties and uses*. CRC Press, Boca Raton, pp 55
88. Doyle S, Pethrick RA, Harris RK, Lane JM, Packer KJ, Heatley F (1986) *Polymer* 27: 19
89. Miyamoto T, Sato Y, Shibata T, Tanahashi M, Inagaki H (1985) *J Polym Sci Polym Chem Ed* 23: 1373
90. Tedder JM (1955) *Chem Rev (Washington DC)* 55: 787
91. Hamalainen C, Wade RH, Buras EM Jr (1957) *Text Res J* 27: 168

92. Novak LJ, Tyree JT (1960) US 2954372 CAN 55: 50844
93. Iwata T, Fukushima A, Okamura K, Azuma J (1997) J Appl Polym Sci 65: 1511
94. Mueller F (1985) Papier (Bingen, Ger) 39: 591
95. Morooka T, Norimoto M, Yamada T, Shiraishi N (1984) J Appl Polym Sci 29: 3981
96. Bourne EJ, Stacey M, Tatlow JC, Tedder JM (1949) J Chem Soc Abstr 2976
97. Sun RC, Sun XF, Tomkinson J (2004) Hemicelluloses and their derivatives. In: Gatenholm P, Tenkanen M (eds) Hemicelluloses: Science and Technology. ACS Symposium Series 864, American Chemical Society, Washington DC, pp 2
98. Sun X-F, Sun R-C, Zhao L, Sun J-X (2004) J Appl Polym Sci 92: 53
99. Edgar KJ, Pecorini TJ, Glasser WG (1998) Long-chain cellulose esters: preparation, properties, and perspective. In: Heinze T, Glasser WG (eds) Cellulose Derivatives. Modification, Characterization and Nanostructures. ACS Symposium Series 688, American Chemical Society, Washington, DC pp 38
100. Wurzburg OB (1964) Acetylation. In: Whistler RL (ed) Methods in Carbohydrate Chemistry. Vol 4, Academic Press, New York, London, pp 286
101. Höfler G, Steglich W, Vorbrüggen H (1978) Angew Chem 90: 602
102. Tezuka Y (1998) Carbohydr Res 305: 155
103. Kurita K, Ishii S, Tomita K, Nishimura S-I, Shimoda K (1994) J Polym Sci Polym Chem Ed 32: 1027
104. Hiatt GD, Mench JW, Emerson J (1956) US 2759925 CAN 50: 79767
105. Wade RH, Reeves WA (1964) Text Res J 34: 836
106. Aburto J, Alric I, Thiebaud S, Borredon E, Bikiaris D, Prinós J, Panayiotou C (1999) J Appl Polym Sci 74: 1440
107. Ehrhardt S, Begli AH, Kunz M, Scheiwe L (1997) EP 792888 CAN 127: 249640
108. Sircar AK, Stanonis DJ, Conrad CM (1967) J Appl Polym Sci 11: 1683
109. Malm CJ, Mench JW, Kendall DL, Hiatt GD (1951) J Ind Eng Chem (Seoul) 43: 684
110. Novac LJ, Tyree JT (1956) US 2734005 CAN 50: 46838
111. Malm CJ, Mench JW, Kendall DL, Hiatt GD (1951) J Ind Eng Chem (Seoul) 43: 688
112. Gros AT, Feuge RO (1962) J Am Oil Chem Soc 39: 19
113. Sagar AD, Merrill EW (1995) J Appl Polym Sci 58: 1647
114. Teng J, Rha C (1972) US 3666492 CAN 77: 60348
115. Bader H, Rafler G, Lang J, Lindhauer M, Klaas MR, Funke U, Warwel S (1998) EP 859012 CA 129: 204389
116. Riemschneider R, Siekfeld J (1964) Monatsh Chem 95: 194
117. Peltonen S, Harju K (1994) WO 9422919 CAN 123: 86469
118. Wang P, Tao BY (1994) J Appl Polym Sci 52: 755
119. Wang P, Tao BY (1999) Characterization of plasticized and mixed long-chain fatty cellulose esters. In: Imam SH, Green RV, Zaidi BR (eds) Biopolymers: Utilizing Nature's Advanced Materials. ACS Symposium Series 723, pp 77
120. Shogren RL (2003) Carbohydr Polym 52: 319
121. Hirata Y, Aoki M, Kobatake H, Yamamoto H (1999) Biomaterials 20: 303
122. Heinze T, Glasser WG (1998) The role of novel solvents and solution complexes for the preparation of highly engineered cellulose derivatives. In: Heinze T, Glasser WG (eds) Cellulose derivatives, modification, characterisation and nanostructures. ACS Symposium series (688), pp 2
123. Husemann E, Siefert E (1969) Makromol Chem 128: 288
124. Wu J, Zhang J, Zhang H, He J, Ren Q, Guo M (2004) Biomacromolecules 5: 266
125. Kloor EA, Koch W, Klemm D, Dicke R (2000) DE 19951734 CAN 133: 224521
126. Ibrahim AA, Nada AMA, Hagemann U, El Seoud OA (1996) Holzforschung 50: 221

127. Heinze T, Liebert T, Pfeiffer KS, Hussain MA (2003) *Cellulose* 10: 283
128. Takaragi A, Minoda M, Miyamoto T, Liu HQ, Zhang LN (1999) *Cellulose* 6: 93
129. Ciacco GT, Liebert TF, Frollini E, Heinze TJ (2003) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 10: 125
130. Förster H, Asskali F, Nitsch E (1991) DE 4123000 CAN 118: 175891
131. Mark AM, Mehlretter CL (1972) *Starch/Staerke* 24: 73
132. Shogren RL (1996) *Carbohydr Polym* 29: 57
133. Billmers RL, Tessler MM (1994) AU 648956 B1 CAN 121: 207918
134. Brockway CE (1965) *J Polym Sci Part A: Polym Chem* 3: 1031
135. Parmerter MS (1971) US 3620913 CAN 76: 73995
136. Fang JM, Fowler PA, Sayers C, Williams PA (2004) *Carbohydr Polym* 55: 283
137. Lipparini L, Garutti MA (1967) *Quad Merceol* 5: 35
138. Tessler MM (1973) DE 2230884 CAN 78: 99447
139. Sun RC, Sun XF, Bing X (2002) *J Appl Polym Sci* 83: 757
140. Fischer S, Voigt W, Fischer K (1999) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 6: 213
141. Leipner H, Fischer S, Brendler E, Voigt W (2000) *Macromol Chem Phys* 201: 2041
142. Fischer S, Leipner H, Brendler E, Voigt W, Fischer K (1999) *ACS Symp Ser* 737: 143
143. Narayan R, Bloembergen ST, Lathia A (1995) WO 9504083 CAN 123: 116083
144. Bruneel D, Schacht E (1994) *Polymer* 35: 2656
145. Vermeersch J, Schacht E (1985) *Bull Soc Chim Belg* 94: 287
146. Bauer KH, Reinhart T (1996) DE 4433101 CAN 124: 292795
147. Reinisch G, Radics U, Roatsch B (1995) *Angew Makromol Chem* 233: 113
148. Shimoozono T, Shiraishi N (1997) JP 09031103 CAN 126: 226739
149. Ferruti P, Tanzi MC, Vaccaroni F (1979) *Makromol Chem* 180: 375
150. Philipp B (1990) *Polym News* 15: 170
151. Deus C, Friebolin H, Siefert E (1991) *Makromol Chem* 192: 75
152. Swatloski RP, Spear SK, Holbrey JD, Rogers RD (2002) *J Am Chem Soc* 124: 4974
153. Heinze T, Barthel S, Schwikal K (2005) *Macromol Biosci* 5: 520
154. Sanchez-Chavez M, Arranz F, Diaz C (1989) *Makromol Chem* 190: 2391
155. Ramirez JC, Sanchez-Chavez M, Arranz F (1994) *Polymer* 35: 2651
156. Kim S-H, Chu C-C (2000) *J Biomed Mater Res* 49: 517
157. Sun RC, Fang JM, Tomkinson J, Hill CAS (1999) *J Wood Chem Technol* 19: 287
158. McCormick CL, Lichatowich DK, Pelezo JA, Anderson KW (1980) *ACS Symp Ser* 121: 371
159. El-Kafrawy A (1982) *J Appl Polym Sci* 27: 2435
160. Spange S, Reuter A, Vilsmeier E, Heinze T, Keutel D, Linert W (1998) *J Polym Sci Polym Chem Ed* 36: 1945
161. Vincendon M (1985) *Makromol Chem* 186: 1787
162. McCormick CL, Callais PA (1987) *Polymer* 28: 2317
163. El Seoud OA, Marson GA, Ciacco GT, Frollini E (2000) *Macromol Chem Phys* 201: 882
164. Regiani AM, Frollini E, Marson GA, Arantes GM, El Seoud OA (1999) *J Polym Sci Polym Chem Ed* 37: 1357
165. Pawlowski WP, Sankar SS, Gilbert RD, Fornes RD (1987) *J Polym Sci Polym Chem Ed* 25: 3355
166. Fang JM, Fowler PA, Tomkinson J, Hill CAS (2002) *Carbohydr Polym* 47: 245
167. Terbojevich M, Cosani A, Carraro C, Torri G (1988) In: Skjak-Braek G, Anthonsen T, Sandford P (eds) *Chitin and Chitosan*. Elsevier Applied Science, London pp 407
168. Grote C, Heinze T (2005) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* in press
169. Gräbner D, Liebert T, Heinze T (2002) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 9: 193

170. Hon DN, Yan HJ (2001) *J Appl Polym Sci* 81: 2649
171. McCormick CL, Lichatowich DK (1979) *J Polym Sci Polym Lett Ed* 17: 497
172. Terbojevich M, Cosani A, Focher B, Gastaldi G, Wu W, Marsano E, Conio G (1999) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 6: 71
173. Yoshida Y, Yanagisawa M, Isogai A, Suguri N, Sumikawa N (2005) *Polymer* 46: 2548
174. Sharma RK, Fry JL, James L (1983) *J Org Chem* 48: 2112
175. Sun H, DiMugno SG (2005) *J Am Chem Soc* 127: 2050
176. Köhler S (2005) Neue Lösemittel für Cellulose DMSO/Ammoniumfluoride, Diploma Thesis, University of Jena, Germany
177. Zhang L, Zhang M, Zhou Q, Chen J, Zeng F (2000) *Biosci Biotechnol Biochem* 64: 2172
178. Whistler RL, Roberts HJ (1959) *J Am Chem Soc* 81: 4427
179. Deuel H, Solms J, Neukom H (1954) *Chimia* 8: 64
180. Fujimoto T, Takahashi S, Tsuji M, Miyamoto T, Inagaki H (1986) *J Polym Sci Part C Polym Lett* 24: 495
181. Trapasso LE (1977) US 4011393 CAN 86: 157395
182. Aburto J, Hamaili H, Mouysset-Baziard G, Senocq F, Alric I, Borredon E (1999) *Starch/Staerke* 51: 302
183. Emelyanov YG, Grinspan DD, Kaputskii FN (1988) *Khim Drev* 1: 23
184. Salin BN, Cemeris M, Mironov DP, Zatsepin AG (1991) *Khim Drev* 3: 65
185. Schnabelrauch M, Vogt S, Klemm D, Nehls I, Philipp B (1992) *Angew Makromol Chem* 198: 155
186. Philipp B, Wagenknecht W, Nehls I, Ludwig J, Schnabelrauch M, Kim HR, Klemm D (1990) *Cellul Chem Technol* 24: 667
187. Liebert T, Klemm D, Heinze T (1996) *J Macromol Sci Pure Appl Chem A33*: 613
188. Liebert T, Schnabelrauch M, Klemm D, Erler U (1994) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 1: 249
189. Mansson P, Westfelt L (1980) *Cellul Chem Technol* 14: 13
190. Seymour RB, Johnson EL (1978) *J Polym Sci Polym Chem Ed* 16: 1
191. Clermont LP, Manery N (1974) *J Appl Polym Sci* 18: 2773
192. Wagenknecht W, Nehls I, Philipp B (1993) *Carbohydr Res* 240: 245
193. Johnson DC, Nicholson MD, Haigh FG (1976) *J Appl Polym Sci Appl Polym Symp* 28: 931
194. Baker TJ, Schroeder LR, Johnson DC (1981) *Cellul Chem Technol* 15: 311
195. Saikia CN, Dutta NN, Borah M (1993) *Thermochim Acta* 219: 191
196. Shimizu Y, Hayashi J (1988), *Sen'i Gakkaishi* 44: 451
197. Shimizu Y, Nakayama A, Hayashi J (1991) *Cellul Chem Technol* 25: 275
198. Jandura P, Riedl B, Kokta BV (2000) *Polym Degrad Stabil* 70: 387
199. Schaller J, Heinze T (2000) *Macromol Chem Phys* 201: 1214
200. Brewster JW, Ciotti CJ (1955) *J Am Chem Soc* 77: 6214
201. Sealey JE, Frazier CE, Samaranayake G, Glasser WG (2000) *J Polym Sci Polym Phys Ed* 38: 486
202. Sanchez-Chaves M, Arranz F (1997) *Polymer* 38: 2501
203. Vasil'ev AE, Khachaturov AA, Rozenberg GY (1971) *Khim Priir-Soedin* 7: 698
204. Sealey JE, Samaranayake G, Todd JG, Glasser WG (1996) *J Polym Sci Polym Phys Ed* 34: 1613
205. Glasser WG, Samaranayake G, Dumay M, Dave V (1995) *J Polym Sci Polym Phys Ed* 33: 2045
206. Glasser WG, Becker U, Todd JG (2000) *Carbohydr Polym* 42: 393
207. Koschella A, Haucke G, Heinze T (1997) *Polym Bull* 39: 597
208. Gradwell SE, Rennacker S, Esker AR, Heinze T, Gatenholm P, Vaca-Garcia C, Glasser W (2004) *CR Biol* 327: 945
209. Harada A, Shintani A, Sugiyama H, Iwamoto O (1986) JP 61152701 CAN 105: 228854

210. Haslam E (1980) *Tetrahedron* 36: 2409
211. Fenselau AH, Moffatt JG (1966) *J Am Chem Soc* 88: 1762
212. Bamford CH, Middleton IP, Al-Lamee KG (1986) *Polymer* 27: 1981
213. Won CY, Chu CC (1998) *J Appl Polym Sci* 70: 953
214. Kochetkov NK, Khachatur'yan AA, Vasil'ev AE, Rozenberg GY (1969) *Khim Priir Soedin* 5: 427
215. Azhigirova MA, Vasil'ev AE, Gerasimovskaya LA, Khachatur'yan AA, Rozenberg GY (1977) *Zh Obshch Khim* 47: 464
216. Nichifor M, Carpov A (1999) *Eur Polym J* 35: 2125
217. Nichifor M, Stanciu MC, Zhu XX (2004) *React Funct Polym* 59: 141
218. Jung SW, Jeong YI, Kim YH, Kim SH (2004) *Arch Pharmacol Res* 27: 562
219. Glinel K, Huguet J, Muller G (1999) *Polymer* 40: 7071
220. Mocanu G, Carpov A, Chapelle S, Merle L, Muller G (1995) *Can J Chem* 73: 1933
221. Kim S, Chae SY, Na K, Kim SW, Bae YH (2003) *Biomaterials* 24: 4843
222. Vermeersch J, Vandoorne F, Permentier D, Schacht E (1985) *Bull Soc Chim Belg* 94: 591
223. Samaranayake G, Glasser WG (1993) *Carbohydr Polym* 22: 1
224. Zhang ZB, McCormick CL (1997) *J Appl Polym Sci* 66: 293
225. Williamson SL, McCormick CL (1998) *J Macromol Sci Pure Appl Chem* A35: 1915
226. Deguchi S, Akiyoshi K, Sunamoto J (1994) *Macromol Rapid Commun* 15: 705
227. Auzely-Velty R, Rinaudo M (2003) *Int J Biol Macromol* 31: 123
228. Staab HA (1962) *Angew Chem* 74: 407
229. Kol'tsova GN, Khachatur'yan AA, Doronina TN, Vasil'ev AE, Rozenberg GY (1972) *Khim Priir Soedin* 3: 266
230. Williams AS, Taylor G (1992) *Int J Pharm* 83: 233
231. van Dijk-Wolthuis WNE, Tsang SKY, Kettenes-Van Den JJ, Henninka WE (1997) *Polymer* 38: 6235
232. Neumann U, Wiege B, Warwel S (2002) *Starch/Stärke* 54: 449
233. Grote C (2004) *Stärkeester - Neue Synthesewege und Produkte*. Ph. D. thesis, University of Jena
234. Liebert TF, Heinze T (2005) *Biomacromolecules* 6: 333
235. Hon DN, Yan HJ (2001) *J Appl Polym Sci* 82: 243
236. Zhu C, Wang D, Hu H (1984) *Kexue Tongbao (Foreign Lang Ed)* 29: 707
237. Tanida F, Tojima T, Han SM, Nishi N, Tokura S, Sakairi N, Seino H, Hamada K (1998) *Polymer* 39: 5261
238. Sun T, Lindsay JD (2004) *US 6689378 B1 CAN* 135: 78461
239. Hussain MA, Liebert T, Heinze Th (2004) *Polym News* 29: 14
240. Vaca-Garcia C, Borredon ME, Gaset A (2000) *WO 2000050493 CAN* 133: 194826
241. Laletin AJ, Gal'braikh LS, Rogovin ZA (1968) *Vysokomol Soedin Ser A* 10: 652
242. Rooney ML (1976) *Polymer* 17: 555
243. Ferreira L, Gil MH, Dordick JS (2002) *Biomaterials* 23: 3957
244. Ferreira L, Carvalho R, Gil MH, Dordick JS (2002) *Biomacromolecules* 3: 333
245. Dicke R (2004) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 11: 255
246. Chakraborty S, Sahoo B, Teraoka I, Miller LM, Gross RA (2005) *Macromolecules* 38: 61
247. Levesque G, Lemee L (2002) *FR 2816310 CAN* 137: 354616
248. Edgar KJ, Arnold KM, Blount WW, Lawniczak JE, Lowman DW (1995) *Macromolecules* 28: 4122
249. Witzemann JS, Nottingham WD, Rector FD (1990) *J Coat Technol* 62: 101
250. Witzemann JS, Nottingham WD (1991) *J Org Chem* 56: 1713
251. Clemens RJ (1986) *Chem Rev (Washington DC)* 86: 241
252. Wentrup C, Heilmayer W, Kollenz G (1994) *Synthesis* 1219

253. McCormick CL, Dawsey TR (1990) *Macromolecules* 23: 3606
254. Donabedian DH, McCarthy SP (1998) *Macromolecules* 31: 1032
255. Ikeda I, Washino K, Maeda Y (2003) *Sen'i Gakkaishi* 59: 110
256. McCormick CL, Callais PA (1986) *Polym Prepr (Am Chem Soc, Div Polym Chem)* 27: 91
257. Rahn K, Diamantoglou M, Klemm D, Berghmans H, Heinze Th (1996) *Angew Makromol Chem* 238: 143
258. Clode DM, Horton D (1971) *Carbohydr Res* 17: 365
259. Heinze T, Talaba P, Heinze U (2000) *Carbohydr Polym* 42: 411
260. Kurita K, Yoshino H, Yokota K, Ando M, Inoue S, Ishii S, Nishimura S-I (1992) *Macromolecules* 25: 3786
261. Terbojevich M, Carraro C, Cosani A, Marsano E (1988) *Carbohydr Res* 180: 73
262. Ernst B, Tessmann D, Stoehlmacher P (1971) *Wiss Z Univ Rostock, Math-Naturwiss Reihe* 20: 623
263. Heinze T, Camacho JA, Haucke G (1996) *Polym Bull* 37: 743
264. Wolfrom ML, Sowden JC, Metcalf EA (1941) *J Am Chem Soc* 63: 1688
265. Roberts RW (1957) *J Am Chem Soc* 79: 1175
266. Frazier CE, Glasser WG (1990) *Polym Prepr (Am Chem Soc, Div Polym Chem)* 31: 634
267. Siegmund G (2000) Untersuchungen zur Reaktivität von Cellulosesulfonaten in nucleophilen Substitutionsreaktionen und Folgederivatisierungen. Ph. D. thesis, University of Jena, Germany
268. Mocanu G, Constantin M, Carpov A (1996) *Angew Makromol Chem* 241: 1
269. Biermann CJ, Narayan R (1986) *Carbohydr Res* 153: C1
270. Tsukada Y, Nemori R (1990) JP 02129236 CAN 113: 174352
271. Siegmund G, Klemm D (2002) *Polym News* 27: 84
272. McCormick CL, Dawsey TR, Newman JK (1990) *Carbohydr Res* 208: 183
273. Dicke R, Rahn K, Haack V, Heinze T (2001) *Carbohydr Polym* 45: 43
274. Kurita K, Inoue S, Yamamura K, Yoshino H, Ishii S, Nishimura S (1992) *Macromolecules* 25: 3791
275. Kurita K, Hashimoto S, Yoshino H, Ishii S, Nishimura S (1996) *Macromolecules* 29: 1939
276. Morita Y, Sugahara Y, Takahashi A, Ibonai M (1994) *Eur Polym J* 30: 1231
277. Snezhko VA, Khomyakov KP, Komar VP, Osipova VV, Virnik AD, Zhbankov RG, Rogovin ZA (1975) *Zh Prikl Khim (S Peterburg)* 48: 1540
278. Ilieva NI, Gal'braikh LS (1975) Studies in nucleophilic substitution of cellulose benzenesulfonates. Gro-mov VS (ed) *Tezisy Dokl. - Vses. Konf. Khim. Fiz. Tsellyul.*, 1st, 1, pp 64; Ilieva NI, Gal'braikh LS, Rogovin ZA (1975) *Koksnes Kim* 6: 13; Ilieva NI, Gal'braikh LS, Rogovin Z A (1976) *Cellul Chem Technol* 10: 547; Ilieva NI, Gal'braikh LS, Kolokolkina NV, Kolosova TE, Zhbankov RG (1976) *Koksnes Kim* 3: 28
279. Kolova AF, Komar VP, Skorniyakov IV, Virnik AD, Zhbanov RG, Rogovin ZA (1978) *Cellul Chem Technol* 12: 553
280. Carson JF, Maclay WD (1948) *J Am Chem Soc* 70: 2220
281. Boeykens S, Vazquez C, Temprano N (2003) *Spectrochim Acta Part B* 58B: 2169
282. Boeykens SP, Vazquez C, Temprano N, Rosen M (2004) *Carbohydr Polym* 55: 129
283. Berlin P, Tiller J, Klemm D (1997) WO 9725353 CA 127: 150332
284. Yalpani M (1988) *Polysaccharides. Syntheses, Modifications and Structure/Property Relations*. Elsevier, Amsterdam, pp 8
285. Woodings CR (1993) Regenerated Cellulosics. In: Kroschwitz JI, Howe-Grant M (eds) *Encyclopedia of Chemical Technology*. Vol. 10. 4th ed, John Wiley & Sons New York, pp 696
286. Schweiger RG (1971) DE 2120964 CAN 76: 128029
287. Wagenknecht W, Nehls I, Philipp B (1992) *Carbohydr Res* 237: 211

288. Fransson L-A (1985) Mammalian glycosaminoglycans. In: Aspinall GO (ed) *The Polysaccharides*. Academic Press, New York, pp 338
289. Nakano T, Dixon WT, Ozimek L (2002) Proteoglycans (Glu-cosaminoglycans/Mucopolysaccharides). In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) *Biopolymers. Polysaccharides II*, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, pp. 575
290. Gallagher JT, Lyon M, Steward WP (1986) *Biochem J* 236: 313
291. Rodén L (1968) The Protein-carbohydrate linkages of acid mucopolysaccharides. In: Quintarelli G (ed) *Chemical Physiology of Mucopolysaccharides*, Volume date 1965, J. & A. Churchill, London, pp 17
292. Malmstroem A, Aaberg L (1982) *Biochem J* 201: 489
293. Koumoto K, Umeda M, Numata M, Matsumoto T, Sakurai K, Kunitake T, Shinkai S (2004) *Carbohydr Res* 339: 161
294. Whistler RL, Spencer WW (1961) *Arch Biochem Biophys* 95: 36
295. Osawa Z, Morota T, Hatanaka K, Akaike T, Matsuzaki K, Nakashima H, Yamamoto N, Suzuki E, Miyano H, Mimura T, Kaneko Y (1993) *Carbohydr Polym* 21: 283
296. Yoshida T, Yasuda Y, Mimura T, Kaneko Y, Nakashima H, Yamamoto N, Uryu T (1995) *Carbohydr Res* 276: 425
297. Chaidedgumjorn A, Toyoda H, Woo ER, Lee KB, Kim YS, Toida T, Imanari T (2002) *Carbohydr Res* 337: 925
298. Wang Y-J, Yao S-J, Guan Y-X, Wu T-X, Kennedy JF (2005) *Carbohydr Polym* 59: 93
299. Ronghua H, Yumin D, Jianhong Y (2003) *Carbohydr Polym* 52: 19
300. Bischoff KH, Dautzenberg H (1975) DD 112456 CAN 84: 107351
301. Roberts HJ (1967) Starch derivatives. In: Whistler RL, Paschall EF, (eds) *Starch: Chemistry and Technology*, Vol. 2, Academic Press, New York, pp 293
302. Zurawski P, Skrzypczak W, Wrociniski T, Kaczmarek F (1976) PL 87000 CAN 88: 24492
303. Koerdel K, Schierbaum F (1975) DD 117078 CAN 85: 7578
304. Schierbaum F, Koerdel K (1978) Reaction of starch with chlorosulfonic acid-formamide reagent, *Carbohydrate Sulfates* (ACS Symp Series 77) American Chemical Society, pp 173
305. Paschall EF (1956) US 2775586 CAN 51: 23928
306. Martin I, Wurzburg OB (1958) US 2857377 CAN 53: 39631
307. Whistler RL, Spencer WW (1964) Sulfation. Triethylamin-sulfur trioxide complex. In: Whistler RL (Ed) *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol. 4, Academic Press, New York, pp 297
308. Smith HE, Russel CR, Rist CE (1963) *Cereal Chem* 40: 282
309. Whistler RL (1970) US 3507855
310. Guisely KB, Whitehouse PA (1973) US 3720659 CAN 79: 20613
311. Kucerova M, Pasteka M (1975) *Chem Zvesti* 29: 697
312. Kerr RW, Paschall EF, Minkema WmH (1961) US 2967178 CAN 55: 39503
313. Tessler MM (1978) US 4093798 CAN 89: 165292
314. Yao S (2000) *Chem Eng J (Lausanne)* 78: 199
315. Klemm D, Philip B, Heinze T, Heinze U, Wagenknecht W (1998) *Comprehensive Cellulose Chemistry*, Vol. 2, Wiley VCH, New York, pp. 117
316. Schweiger RG (1974) *Tappi* 57: 86
317. Wagenknecht W, Nehls I, Stein A, Klemm D, Philipp B (1992) *Acta Polym* 43: 266
318. Tester RF, Karkalas J (2002) Starch. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) *Biopolymers. Polysaccharides II*, Wiley-VCH, New York, pp 381
319. Blennow A, Bay-Smidt AM, Wischmann B, Olsen CE, Moller BL (1998) *Carbohydr Res* 307: 45
320. Blennow A, Nielsen TH, Tom H, Bausgaard L, Mikkelsen R, Engelsen SB (2002) *Trends Plant Sci*

- 7: 445
321. Hamilton RM, Paschall EF (1967) Production and uses of starch phosphates. In: Whistler RL, Paschall EF (eds) *Starch: Chemistry and Technology*, Vol. 2, Academic Press, New York, pp 351
322. Paschall EF (1964) Phosphation with inorganic phosphate salts. In: Whistler RL (ed) *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol. 4, Academic Press, New York, 294
323. Rubens RW, Patel JK, Wurzburg OB, Jarowenko W (1980) US 4216310 CAN 93: 188098
324. Tessler MM (1974) US 3838149 CAN 82: 74773
325. Tessler MM (1974) US 3842071 CAN 82: 74775
326. Tessler MM, Rutenberg MW (1973) US 3720662 CAN 79: 20608
327. Verbanac F, Moser KB (1971) US 3553194 CAN 74: 100820
328. Tessler MM (1976) US 3969341 CAN 85: 14150
329. Wurzburg OB, Jarowenko W, Patel JK, Rubens RW (1979) US 4166173 CAN 91: 212879
330. Greidinger DS, Cohen BM (1967) US 3320237 CAN 67: 91923
331. Park DP, Sung JH, Choi HJ, Jhon MS (2004) *J Mater Sci* 39: 6083
332. Landerito NA, Wang Y-J (2005) *Cereal Chem* 82: 264
333. Solarek DB (1987) Phosphorylated starches and miscellaneous inorganic esters. Wurzburg OB (ed) *Modified Starches: Properties and uses*. CRC Press Inc., Boca Raton, pp 97
334. Lewandowicz G, Szymanska G, Voelkel E, Walkowski A (2000) *Pol J Food Nutr Sci* 9: 31
335. Rutenberg MW (1980) Starch and its modification. In: Davidson RL (ed) *Handbook of Water Soluble Gums and Resins*, McGraw-Hill, New York, chapt. 22
336. Kerr RW, Cleveland, FC, Jr (1959) US 2884413 CAN 53: 91964
337. Swiderski F (1977) *Acta Aliment Pol* 3: 115
338. Hjermstad ET (1962) US 3069411 CAN 58: 34158
339. Christoffel C, Borel EA, Blumenthal A, Schobinger U, Mueller K (1967) US 3352848
340. Park DP, Sung JH, Kim CA, Choi HJ, Jhon MS (2004) *J Appl Polym Sci* 91: 1770
341. Waly A, Abdel-Mohdy FA, Higazy A, Hebeish A (1994) *Starch/Staerke* 46: 59
342. Sannella JL, Whistler RL (1963) *Arch Biochem Biophys* 102: 226
343. Whistler RL (1969) *Denpun Kogyo Gakkaishi* 17: 41
344. Towle GA, Whistler RL (1972) Phosphorylation of Starch and Cellulose with an amine salt of tetra polyphosphoric acid. In: Whistler RL, BeMiller JN (eds) *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol 6, Academic Press, New York, pp. 408
345. Kajikawa M, Santo H (1998) JP 10152503 CAN 129: 82948
346. Yeh MH (1992) EP 510986 CAN 118: 171406
347. Sato T, Nishimura-Uemura J, Shimosato T, Kawai Y, Kitazawa H, Saito T (2004) *J Food Prot* 67: 1719
348. Nishi N, Ebina A, Nishimura S, Tsutsumi A, Hasegawa O, Tokura S (1986) *Int J Biol Macromol* 8: 311
349. Nishi N, Maekita Y, Nishimura S, Hasegawa O, Tokura S (1987) *Int J Biol Macromol* 9: 109
350. Dace R, McBride E, Brooks K, Gander J, Buszko M, Doctor VM (1997) *Thromb Res* 87: 1131
351. Touey GP (1956) US 2759924 CAN 51: 3440
352. Nehls I, Loth F (1991) *Acta Polym* 42: 233
353. Ahn B-G (2003) *Polym J (Tokyo)* 35: 23
354. Granja PL, Pouysegue L, Petraud M, De Jeso B, Baquey C, Barbosa MA (2001) *J Appl Polym Sci* 82: 3341
355. Vigo TL, Welch CM (1973) *Textilveredlung* 8: 93
356. Wagenknecht W, Philipp B, Schleicher H (1979) *Acta Polym* 30: 108

357. Klemm D, Philip B, Heinze T, Heinze U, Wagenknecht W (1998) *Comprehensive Cellulose Chemistry*, Vol. 2, Wiley VCH, New York, pp. 136
358. Wagenknecht W, Philipp B, Nehls I, Schnabelrauch M, Klemm D, Hartmann M (1991) *Acta Polym* 42: 213
359. Wagenknecht W, Nehls I, Philipp B, Schnabelrauch M, Klemm D, Hartmann M (1991) *Acta Polym* 42: 554
360. Wagenknecht W (1996) *Papier* (Bingen, Ger) 50: 712
361. Crater W de C (1933) US 1922123 CAN 27: 57762
362. Mustafa A, Dawoud AF, Marawan A (1970) *Starch/Staerke* 22: 17
363. Wolfrom ML, Maher GG, Chaney A (1958) *J Org Chem* 23: 1990
364. Caesar GV (1958) Starch nitrate. In: Wolfrom ML, Tipson RS (eds) *Advances in Carbohydrate chemistry*, Vol. 13, Academic Press, New York, pp 331
365. Brewer RJ, Bogan RT, Cellulose Esters, Inorganic. In: Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G (eds) *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Vol. 3, John Wiley & Sons, New York, 1985, pp. 139
366. Alexander WJ, Mitchell RL (1949) *Anal Chem* 21: 1497
367. Bennett CF, Timell TE (1955) *Sven Papperstidn* 58: 281
368. Thinius K, Thümler W. (1966) *Makromol Chem* 99: 117
369. Clermont LP, Bender F (1972) *J Polym Sci Part A: Polym Chem* 10: 1669
370. Schweiger RG (1977) US 4035569
371. Green JW (1963) Nitration with mixtures of nitric and sulfuric acids. In: Whistler RL (ed) *Methods in Carbohydrate Chemistry*. Vol. III, Academic Press, New York, pp 213
372. Eliseeva LM, Berenshtein EI, Aikhodzhaev BI, Pogosov YL (1968) *Zh Anal Khim* 23: 436
373. Malm CJ, Genung LB, Williams RF Jr, Pile MA (1944) *Ind Eng Chem Anal Ed* 16: 501
374. Malm CJ, Nadeau GF (1937) US 2069892 CAN 31: 17395
375. Yang CQ, Wang D (2000) *Text Res J* 70: 615
376. Hu X, Zhou X (1998) *J China Text Univ (Engl Ed)* 15: 10
377. Shkol'nik SI, Teodorovich DA, Chernaya MA (1973) *Issled Razrab Poligr Prom* 64
378. Abo-Shosha MH, Ibrahim NA, Elnagdy EI, Gaffar MA (2002) *Polym Plast Technol Eng* 41: 963
379. Proinov D, Georgiev G (1993) *God Sofii Univ "Sv Kliment Okhridski" Khim Fak* 86: 83
380. Prey V, Schindlbauer H, Maday E (1973) *Starch/Staerke* 25: 73
381. Ogawa K, Hirai I, Shimasaki C, Yoshimura T, Ono S, Rengakuji S, Nakamura Y, Yamazaki I (1999) *Bull Chem Soc Jpn* 72: 2785
382. Krasovskii AN, Polyakov DN, Mnatsakanov SS (1993) *J Appl Chem* 66: 1118
383. Krasovskii AN, Plodistyi AB, Polyakov DN (1996) *J Appl Chem* 69: 1183
384. Sollinger S, Diamantoglou M. (1996) *Papier* (Bingen, Ger) 50: 691
385. Chong CK, Xing J, Phillips DL, Corke H (2001) *J Agric Food Chem* 49: 2702
386. Malm CJ, Genung LB, Kuchmy W (1953) *Anal Chem* 25: 245
387. Klaushofer H, Berghofer E, Pieber R (1979) *Starch/Staerke* 31: 259
388. Goodlett VW, Dougherty JF, Patton HW (1971) *J Polym Sci Part A: Polym Chem* 9: 155
389. Kamide K, Okajima K (1981) *Polym J (Tokyo)* 13: 127
390. Buchanan CM, Hyatt JA, Lowman DW (1987) *Macromolecules* 20: 2750
391. Gagnaire DY, Taravel FR, Vignon MR (1976) *Carbohydr Res* 51: 157
392. Gagnaire DY, Taravel FR, Vignon MR (1982) *Macromolecules* 15: 126
393. Capon B, Rycroft DS, Thomson JW (1970) *Carbohydr Res* 70: 145
394. Miyamoto T, Sato Y, Shibata T, Inagaki H, Tanahashi M (1984) *J Polym Sci Polym Chem Ed*

- 22; 2363
395. Sei T, Ishitani K, Suzuki R, Ikematsu K (1985) *Polym J (Tokyo)* 17: 1065
396. Kamide K, Okajima K, Kowsaka K, Matsui T (1987) *Polym J (Tokyo)* 19: 1405
397. Kowsaka K, Okajima K, Kamide K (1986) *Polym J (Tokyo)* 18: 827
398. Kamide K, Saito M (1994) *Macromol Symp* 83: 233
399. Buchanan CM, Edgar KJ, Hyatt JA, Wilson AK (1991) *Macromolecules* 24: 3050
400. Hikichi K, Kakuta Y, Katoh T (1995) *Polym J (Tokyo)* 27: 659
401. Tezuka Y, Tsuchiya Y (1995) *Carbohydr Res* 273: 83
402. Lee CK, Gray GR (1995) *Carbohydr Res* 269: 167; (a) Yu N, Gray RG (1998) *Carbohydr Res* 312: 29
403. Iwata T, Azuma J, Okamura K, Muramoto M, Chun B (1992) *Carbohydr Res* 224: 277
404. Hornig S (2005) *Selbststrukturierende Funktionspolymere durch chemische Modifizierung von Dextranen*. Diploma Thesis, University of Jena
405. Hussain MA, Liebert T, Heinze T (2004) *Macromol Rapid Commun* 25: 916
406. Buchanan CM, Hyatt JA, Lowman DW (1989) *J Am Chem Soc* 111: 7312
407. Nunes T, Burrows HD, Bastos M, Feio G, Gil MH (1995) *Polymer* 36: 479
408. Iijima H, Kowsaka K, Kamide K (1992) *Polym J (Tokyo)* 24: 1077
409. Mischnick P, Heinrich J, Gohdes M, Wilke O, Rogmann N (2000) *Macromol Chem Phys* 201: 1985
410. DeBelder AN, Norrman B (1968) *Carbohydr Res* 8: 1
411. Bouveng HO (1961) *Acta Chem Scand* 15: 78
412. Liebert T, Pfeiffer K, Heinze T (2005) *Macromol Symp* 223: 93
413. Bjorndal H, Lindberg B, Rosell KG (1971) *J Polym Sci Part C: Polym Symp* 36: 523
414. Prehm P (1980) *Carbohydr Res* 78: 372
415. Mischnick P (1991) *J Carbohydr Chem* 10: 711
416. Gohdes M, Mischnick P, Wagenknecht W (1997) *Carbohydr Polym* 33: 163
417. Garegg PJ, Lindberg B, Konradsson P, Kvarnstrom I (1988) *Carbohydr Res* 176: 145
418. Stevenson TT, Furneaux RH (1991) *Carbohydr Res* 210: 277
419. Mischnick-Luebbecke P, Koenig WA, Radeloff M (1987) *Starch/Staerke* 39: 425
420. Heinrich J, Mischnick P (1999) *J Polym Sci Polym Chem Ed* 37: 3011
421. Borjihan G, Zhong GY, Baigude H, Nakashima H, Uryu T (2003) *Polym Adv Technol* 14: 326
422. Demleitner S, Kraus J, Franz G (1992) *Carbohydr Res* 226: 239
423. Hirano S, Ohe Y, Ono H (1976) *Carbohydr Res* 47: 315
424. Hirano S, Moriyasu T (1981) *Carbohydr Res* 92: 323
425. Malm CJ, Tanghe LT, Laird BC, Smith GD (1952) *J Am Chem Soc* 74: 4105
426. Malm CJ, Barkey KT, Salo M, May DC (1957) *J Ind Eng Chem* 49: 79
427. Kowsaka K, Okajima K, Kamide K (1988) *Polym J (Tokyo)* 20: 827
428. Philipp B, Wagenknecht W, Wagenknecht M, Nehls I, Klemm D, Stein A, Heinze Th, Heinze U, Helbig K (1995) *Papier (Bingen, Ger)* 49: 3
429. Klemm D, Heinze T, Stein A, Liebert T (1995) *Macromol Symp* 99: 129
430. Altaner C, Saake B, Puls J (2003) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 10: 85
431. Puls J, Altaner C, Saake B (2004) *Macromol Symp* 208: 239
432. Altaner C, Saake B, Puls J (2003) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 10: 391
433. Camacho Gomez JA, Erler UW, Klemm DO (1996) *Macromol Chem Phys* 197: 953
434. Isogai A, Ishizu A, Nakano J (1986) *J Appl Polym Sci* 31: 341
435. Iwata T, Doi Y, Azuma J (1997) *Macromolecules* 30: 6683
436. Tsunashina Y, Hattori K (2000) *J Colloid Interface Sci* 228: 279
437. Tsunashima Y, Hattori Kawanishi H, Hori F (2001) *Biomacromolecules* 2: 991

438. Klemm D, Heinze T, Philipp B, Wagenknecht W (1997) *Acta Polym* 48: 277
439. Heinze T, Vieira M, Heinze U (2000) *Lenzinger Ber* 79: 39
440. Hatanaka K, Tomioka N, Ohta S, Kadokura T, Zulueta Kasuya MC (1996) *Nippon Setchaku Gakkaishi* 32: 256
441. Heinze T, Heinze U, Grote C, Kötzt J, Lazik W (2001) *Starch/Staerke* 53: 261
442. Xie J, Hsieh YL (2001) *Polym Prepr (Am Chem Soc Div Polym Chem)* 42: 512
443. Einfeldt L, Petzold K, Günther W, Stein A, Kussler M, Klemm D (2001) *Macromol Biosci* 1: 341
444. Klemm D, Stein A, Erler U, Wagenknecht W, Nehls I, Philipp B (1993) New procedures for regioselective synthesis and modification of trialkylsilylcelluloses. In: Kennedy JF, Phillips GO, Williams PA, (eds) *Cellulosics: materials for selective separation and other technologies*. Ellis Horwood, New York, pp. 221
445. Petzold K, Koschella A, Klemm D, Heublein B (2003) *Cellulose (Dordrecht, Neth)* 10: 251
446. Koschella A, Heinze T, Klemm D (2001) *Macromol Biosci* 1: 49
447. Edgar KJ, Buchanan CM, Debenham JS, Rundquist PA, Seiler BD, Shelton MC, Tindall D (2001) *Prog Polym Sci* 26: 1605
448. Glasser WG (2004) *Macromol Symp* 208: 371
449. Staude E (1992) *Membranen und Membranprozesse*. Wiley-VCH, Weinheim
450. Okuyama K, Obata Y, Noguchi K, Kusaba T, Ito Y, Ohno S (1996) *Biopolymers* 38: 557
451. Shao B-H, Xu X-Z, Wu Q-Z, Lu J-D, Fu X-Y (2005) *J Liq Chromatogr Relat Technol* 28: 63
452. Sei T, Matsui H, Shibata T, Abe S (1992) *ACS Symp Ser* 489: 53
453. Kubota T, Yamamoto C, Okamoto Y (2004) *J Poly Sci Polym Chem Ed* 42: 4704
454. Bauer R, Breu W, Wagner H, Weigand W (1991) *J Chromatogr* 541: 464
455. Stampfli H, Patil G, Sato R, Quon CY (1990) *J Liq Chromatogr* 13: 1285
456. Ficarra R, Calabro ML, Tommasini S, Grasso S, Carulli M, Monforte AM, Costantino D (1995) *Chromatographia* 40: 39
457. Garces J, Franco P, Oliveros L, Minguillon C (2003) *Tetrahedron: Asymmetry* 14: 1179
458. Han X, Wen X, Guan Y, Zhao Li, Li C, Chen L, Li Y (2004) *Fenxi Huaxue* 32: 1287
459. Okamoto Y, Yajima E, Yamamoto T (2002) JP 2002148247 CAN 136: 395058
460. Kasuya N, Nakashima J, Kubo T, Sawatari A, Habu N (2000) *Chirality* 12: 670
461. Nishimura M, Hashida I, Minamii N, Sugiyama H, Iwamoto O (1986) JP 61153101 CAN 106: 121739
462. Dautzenberg H, Schuldt U, Lerche D, Woehlecke H, Ehwald R (1999) *J Membr Sci* 162: 165
463. Dautzenberg H, Lukanoff B, Eckert U, Tiersch B, Schuldt U (1996) *Ber Bunsen-Ges* 100: 1045
464. Zhang J, Yao S-J, Guan Y-X (2005) *J Membr Sci* 255: 89
465. Karle P, Mueller P, Renz R, Jesnowski R, Saller R, Von Rombs K, Nizze H, Liebe S, Gunzburg WH, Salmons B, Lohr M (1998) *Adv Exp Med Bio* 451: 97
466. Kammertoens T, Gelbmann W, Karle P, Alton K, Saller R, Salmons B, Gunzburg WH, Uckert W (2000) *Cancer Gene Ther* 7: 629
467. Motomura T, Miyashita Y, Ohwada T, Onishi M, Yamamoto N (1995) EP 679436 CAN 124: 37673
468. Izumi J, Yoshikawa M, Kitao T (1997) *Maku* 22: 149
469. Yoshikawa M, Ooi T, Izumi J-I (1999) *J Appl Polym Sci* 72: 493
470. Ramamoorthy M, Ulbricht M (2003) *J Membr Sci* 217: 207
471. Ulbricht M, Malaisamy R (2005) *J Mater Chem* 15: 1487
472. Franz G, Alban S (1995) *Int J Biol Macromol* 17: 311
473. Kamitakahara H, Nishigaki F, Mikawa Y, Hori M, Tsujihata S, Fujii T, Nakatsubo F (2002) *J Wood Sci* 48: 204
474. Yoshida T, Hatanaka K, Uryu T, Kaneko Y, Suzuki E, Miyano H, Mimura T, Yoshida O,

- Yamamoto N (1990) *Macromolecules* 23: 3717
475. Havlik I, Looareesuwan S, Vannaphan S, Wilairatana P, Krudsood S, Thuma PE, Kozbor D, Watanabe N, Kaneko Y (2005) *Trans R Soc Trop Med Hyg* 99: 333
476. Kindness G, Long WF, Williamson FB (1979) *IRCS Med Sci: Libr Compend* 7: 134
477. Kamide K, Okajima K, Matsui T, Kobayashi H (1984) *Polym J (Tokyo)* 16: 259
478. Escartin Q, Lallam-Laroye C, Baroukh B, Morvan FO, Caruelle JP, Godeau G, Barritault D, Saffar JL (2003) *FASEB J* 17: 644
479. Uryu T (2001) *Kikan Kagaku Sosetsu* 48: 103
480. Doctor VM, Lewis D, Coleman M, Kemp MT, Marbley E, Sauls V (1991) *Thromb Res* 64: 413
481. Mori S, Sugawara I, Ito W (1989) *EP 342544 CAN* 113: 84814
482. Li M, Huang P, Kong X (2004) *Xiandai Zhongliu Yixue* 12: 532
483. Vongchan P, Sajomsang W, Subyen D, Kongtawelert P (2002) *Carbohydr Res* 337: 1239
484. Suzuki M, Mikami T, Matsumoto T, Suzuki S (1977) *Carbohydr Res* 53: 223
485. Di Benedetto M, Starzec A, Colombo BM, Briane D, Perret GY, Kraemer M, Crepin M (2002) *Br J Pharmacol* 135: 1859
486. Wang X, Feng Q, Cui F (2004) *CN1470247 CAN* 142: 170128
487. Miyatake K, Okamoto Y, Shigemasa Y, Tokura S, Minami S (2003) *Carbohydr Polym* 53: 417
488. Kamide K, Okajima K, Matsui T, Ohnishi M, Kobayashi H (1983) *Polym J (Tokyo)* 15: 309
489. Mizumoto Kenji, Sugawara I, Ito W, Kodama T, Hayami M, Mori S (1988) *Jpn J Exp Med* 58: 145
490. Gao Y, Katsuraya K, Kaneko Y, Mimura T, Nakashima H, Uryu T (1998) *Polym J (Tokyo)* 30: 31
491. Gao Y, Katsuraya K, Kaneko Y, Mimura T, Nakashima H, Uryu T (1999) *Macromolecules* 32: 8319
492. Dang W, Colvin OM, Brem H, Saltzman WM (1994) *Cancer Res* 54: 1729
493. Larsen C (1986) *Acta Pharm Suec* 23: 279
494. Larsen C, Kurtzhals P, Johansen M (1988) *Acta Pharm Suec* 25: 1
495. Lee JS, Jung YJ, Doh MJ, Kim YM (2001) *Drug Dev Ind Pharm* 27: 331
496. Jung YJ, Lee JS, Kim HH, Kim YT, Kim YM (1998) *Arch Pharmacol Res* 21: 179
497. Jung YJ, Lee JS, Kim HH, Kim YT, Kim YM, Kim DD, Han SK (1998) *Yakhak Hoechi* 42: 31
498. Larsen C (1989) *J Pharm Biomed Anal* 7: 1173
499. Harboe E, Johansen M, Larsen C (1988) *Farm Sci Ed* 16: 73
500. Larsen C, Jensen BH, Olesen HP (1991) *Acta Pharm Nord* 3: 71
501. Larsen C, Johansen M (1989) *Acta Pharm Nord* 1: 57
502. Sungwon Kb, Su YC, Kun N, Sung WK, You HB (2003) *Biomaterials* 24: 4843
503. Kreuter J (1991) *J Controlled Release* 16: 169
504. Gref R, Minamitake Y, Peracchia MT, Trubetskoy V, Torchillin V, Langer R (1994) *Science (Washington DC)* 263: 1600
505. Jeong Y-I, Cheon JB, Kim S-H, Nah JW, Lee YM, Sung YK, Akaite T, Cho CS (1998) *J Controlled Release* 51: 169
506. Liebert T, Hornig S, Hesse S, Heinze T (2005) *J Am Chem Soc* 127: 10484
507. Lee KY, Jo WH, Kwon IC, Kim YH, Jung SW (1998) *Macromolecules* 31: 378
508. Kim S-H, Won C-Y, Chu C-C (2000) *WO 2000012619 CAN* 132: 208882
509. Kim S-H, Won C-Y, Chu C-C (1999) *J Biomed Mater Res* 46: 160
510. Yamaoka T, Tanihara M, Mikami H, Kinoshita H (2003) *JP 2003252936 CAN* 139: 235488
511. Adams HA (1991) *Anaesthesiol Intensivmed* 10: 277
512. Warnken UH, Asskali F, Förster H (2000) *Starch/Staerke* 52: 261
513. Warnken UH, Asskali F, Förster H (2001) *Krankenhauspharmazie* 22: 113
514. Heins D, Kulicke W-M, Käufer P, Thielking H (1998) *Starch/Staerke* 50: 431

515. Hofmann R (1929) DE 526479, CAN 25: 39014
516. Bates H, Fisher JW, Smith JR (1955) GB 737566 CAN 50: 38373
517. Aburto J, Thiebaud S, Alric I, Borredon E, Bikiaris D, Prinos J, Panayiotou C (1997) Carbohydr Polym 34: 101
518. Edgar KJ, Bogan RT (1996) WO 9620960, CAN 125: 198904
519. Jeanes AR, Wilham CA (1952) US 2587623 CAN 46: 54692
520. Stadler PA (1978) Helv Chim Acta 61: 1675
521. Klemm D, Schnabelrauch M, Stein A, Philipp B, Wagenknecht W, Nehls I, (1990) Papier 44: 624
522. Tiefenthaler KHO, Wyss U (1981) EP 30443 CAN 95: 117405
523. Lohmar R, Sloan JW, Rist CE (1950) J Am Chem Soc 72: 5717
524. Koschella A, Klemm D (1997) Macromol Symp 120: 115
525. Klemm D, Philipp B, Heinze T, Heinze U, Wagenknecht W (1998) Comprehensive Cellulose Chemistry, Vol. II, Wiley VCH, New York, p 235

