

## 多微孔胺基树脂的制备及其对胆红素的吸附性能

肖元丕<sup>1,2</sup>, 曲剑波<sup>1</sup>, 王佳兴<sup>1</sup>, 马光辉<sup>1</sup>, 赵会英<sup>2</sup>

1 中国科学院过程工程研究所 生化工程国家重点实验室, 北京 100080

2 北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029

**摘要:** 采用悬浮聚合法制备了一定尺寸的多微孔聚苯乙烯(PS)微球, 然后通过 Friedel-Crafts 反应(用氯乙酰氯替代了有致癌性的氯甲醚)和胺化反应得到新型的胺基树脂, 并对反应条件进行了优化。结果表明, 利用最优化条件制备的胺基树脂, 其离子交换容量为 4.1587 mmol/g。考察了新型树脂对胆红素的吸附性能, 其吸附量最大可达 30.85 mg/g, 吸附率可达 80%。

**关键词:** 悬浮聚合, 氯乙酰化反应, 多乙烯多胺固载, 胆红素静态吸附

## Preparation of aminated porous resin and for bilirubin adsorption

Yuanpi Xiao<sup>1,2</sup>, Jianbo Qu<sup>1</sup>, Jiaxing Wang<sup>1</sup>, Guanghui Ma<sup>1</sup>, and Huiying Zhao<sup>2</sup>

1 National Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

2 College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

**Abstract:** Polystyrene microspheres (PS) were successfully prepared by suspension polymerization processes. Chloroacetylated polystyrene has been prepared by Friedel-Crafts acetylation of PS with chloroacetyl chloride. In this report, carcinogenic compound (chloromethylether etc.) was avoided. The effects of solvent, catalyst, acylating agent and reaction time were studied. Novel adsorption resins were obtained by synthesis of chloroacetylated polystyrene with amine. The influences of solvent, amine reagent and reaction time on ion exchange capacity were investigated. Under the optimized reaction condition, the ion exchange capacity of the prepared resins was 4.1587 mmol/g. The maximum amount of adsorbed bilirubin was 30.85 mg/g, the adsorption percentage was 80%.

**Keywords:** suspension polymerization, acetylation, amination, bilirubin static adsorption

胆红素是人体内衰老的红细胞中血红素的代谢产物, 分子中含有多个羟基和羧基, 分子量为 585。胆红素在体内主要以 2 种形态存在: 一种是游离胆红素, 另一种是与血清白蛋白结合的胆红素<sup>[1]</sup>。当血液内胆红素含量大于 171  $\mu\text{mol/L}$  时为高胆红素血症<sup>[2]</sup>,

高胆红素血症可导致细胞死亡, 加重肝损伤<sup>[3]</sup>。新生儿婴儿中常见的一种疾病核黄疸即是过量的胆红素进入脑细胞, 干扰脑细胞的正常代谢功能所致, 严重时甚至会危及生命<sup>[4]</sup>, 因此人们试图使用各种方法去除体内过多的胆红素。近年来, 具有良好性能的

Received: September 27, 2008; Accepted: January 21, 2009

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 20536050).

Corresponding author: Guanghui Ma. Tel: +86-10-82627072; E-mail: ghma@home.ipe.ac.cn  
国家自然科学基金(No. 20536050)资助。

胆红素吸附剂成为人们研究的重点。

目前所报道的胆红素吸附剂存在的问题是人血清白蛋白(HSA)存在情况下的吸附容量较小和吸附特异性低<sup>[5]</sup>。本研究以多孔结构的聚苯乙烯微球为载体,在微球分子中引入胺基,旨在提高吸附剂对胆红素的吸附性能。

交联聚苯乙烯通常由苯乙烯与二乙烯苯聚合而成,是一种具有网状结构的交联聚合物,其机械强度高,物理化学性质稳定,是良好的吸附剂载体,应用于胆红素吸附较早<sup>[6-8]</sup>。据报道,在吸附剂中引入胺基可增强其对胆红素的吸附能力,其吸附机理主要是通过胺基与胆红素分子中羧基的静电作用和吸附剂内部空间的疏水作用<sup>[9-11]</sup>。本研究制备了一系列新型的聚苯乙烯树脂,研究了它们对胆红素的吸附性能。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

胆红素(Bilirubin): 纯度 99%, 分子量为 584.65, Acros 公司,  $-18^{\circ}\text{C}$  保存; 人血清白蛋白(HSA): 生化试剂, Merck 公司; 苯乙烯、二乙烯苯, 工业纯; 过氧化苯甲酰、氯乙酰氯(Reg)、二乙烯三胺(DETA)、三乙烯四胺(TETA)、四乙烯五胺(TEPA)、乙醇胺(ETA), 分析纯, 广东汕头市西陇化工厂。

马尔文激光粒度分析仪 Mastersizer 2000(Hydro 2000Mu, Malvern Instruments Ltd, UK); Ultrospec2100 pro 型紫外分光光度计(美国 Amersham Biosciences 公司); Sartorius BS110S 型分析天平;

FTIR-660plus 型红外光谱仪; JSM-6700F 扫描电镜, 日本 JEOL; 恒温水浴锅, 日本 Yamato Scientific。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 聚苯乙烯大孔微球的制备

采用苯乙烯和二乙烯苯为反应单体, 通过悬浮聚合合成了多孔聚苯乙烯微球(PS)。悬浮聚合体系主要由单体、油性引发剂、水、分散剂 4 个基本成分组成。在机械搅拌的作用下单体在水相中被分散成为小液滴, 在引发剂的作用下, 液滴单体进行自由基聚合。随着单体的减少和聚合物分子链的增长, 发生相分离, 聚合物卷曲为球形, 除去水分并抽提未反应完全的单体及低聚物后得到微球。

#### 1.2.2 氯乙酰化聚苯乙烯(PS-Ace-Cl)的制备

在三口烧瓶中依次加入 2 g PS 和 20 mL  $\text{CS}_2$ , 搅拌使其分散均匀, 溶胀后滴加酰基化试剂氯乙酰氯(Reg), 搅拌下加入催化剂(Cat)三氯化铝, 在一定温度下反应。产物依次用无水乙醇、冰盐酸(3%)、去离子水洗滤, 至硝酸银溶液测定滤液无氯离子后, 丙酮洗滤 3 次, 真空干燥至恒重, 称重。按 Volhard 法测定氯球中 Cl 元素的质量分数:

$$M(\%) = \frac{C(\text{AgNO}_3) \times (V_1 - V_2) \times 35.5}{m_0};$$

$M(\%)$ : 氯球中 Cl 元素的质量分数, 即氯含量;

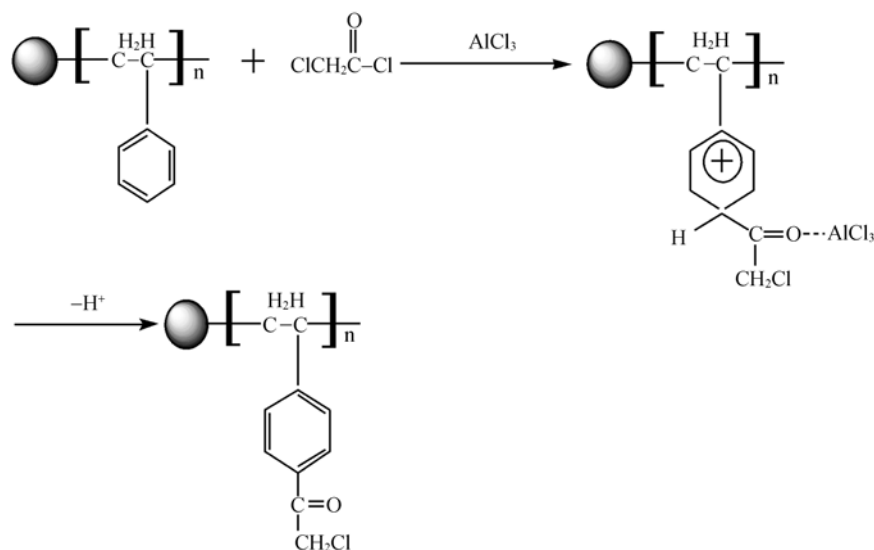
$C(\text{AgNO}_3)$ :  $\text{AgNO}_3$  标准溶液的浓度;

$V_1$ : 所用  $\text{AgNO}_3$  的体积, mL;

$V_2$ : 滴定消耗的 KSCN 的体积, mL;

$m_0$ : PS-Ace-Cl 的质量, mg。

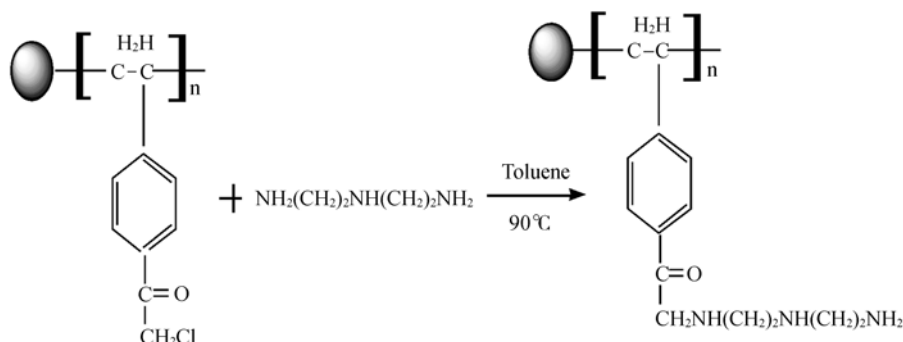
其反应式如下所示:



### 1.2.3 PS-Ace-DETA 系列树脂的制备

在三口烧瓶中依次加入 2 g PS-Ace-Cl 微球和 20 mL 甲苯,溶胀 3 h 之后,滴加一定量的二乙烯三胺试剂,于 90℃ 回流反应 6 h。冷至室温,产物抽滤

后先水洗至中性,然后用工业乙醇洗滤 3 次,真空干燥至恒重。树脂含水量(CW)和交换容量(EC)分别按照国家标准《GB/T 5759-2000》和《GB/T 5760-2000》进行测定。胺化反应式如下所示:



### 1.2.4 胆红素吸附实验

在红光灯下称取一定量的胆红素加入容量瓶中,用少量 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液溶解,待溶解完全后用 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲溶液定容,即可配制成需要浓度的胆红素溶液。

按干重 25 mg 称取对应量的湿树脂置入 25 mL 棕色三角瓶中,加入 5 mL 不同浓度的胆红素溶液,恒温避光振荡一段时间后,离心吸取上层清液用紫外分光光度计在 438 nm 下测吸光度,并计算吸附率和吸附量,同时做空白对照(只加 5 mL 胆红素溶液)。

吸附量的计算:  $Q(\text{mg/g}) = (C_0 - C_1)V/1000W$ ;

吸附率的计算:  $E(\%) = (C_0 - C_1) \times 100/C_0$ ;

$Q$ : 胆红素吸附量, mg/g;

$E$ : 胆红素吸附率, %;

$C_0$ : 胆红素初始浓度, mg/L;

$C_1$ : 吸附平衡后胆红素浓度, mg/L;

$V$ : 胆红素溶液体积, mL;

$W$ : 吸附树脂质量, g;

## 2 结果与讨论

### 2.1 PS、PS-Ace-DETA 树脂的结构表征

微球的粒度分布用马尔文激光粒度仪测定,如图 1 所示,PS 球的粒度分布为正态分布,其粒度分布较为均一,平均粒径为 152  $\mu\text{m}$ 。

图 2A 为 PS 微球光学显微镜照片,可以看出微球粒度分布较均一;图 2B 为单个微球电镜照片及微球内部空间的微孔结构,该结构使树脂具有一定的疏水空间,有利于胆红素的吸附。

图 3 中, A 为 PS 的 IR 谱图、B 为 PS-Ace-Cl 树脂的 IR 谱图, C 为 PS-Ace-DETA 树脂的 IR 谱图。谱线 B 中, 1287.2  $\text{cm}^{-1}$  的吸收峰是苯环上的  $-\text{CH}_2\text{Cl}$  的非平面摇摆振动吸收峰,在 647  $\text{cm}^{-1}$  处有  $-\text{C}-\text{Cl}$  键的弱的伸缩振动吸收峰,在谱线 A 中没有这 2 个峰,谱线 C 中这 2 个吸收峰明显减弱;由于胺基的引入,谱线 C 在 3403.7  $\text{cm}^{-1}$  出现了较强的胺基伸缩振动特征吸收峰。

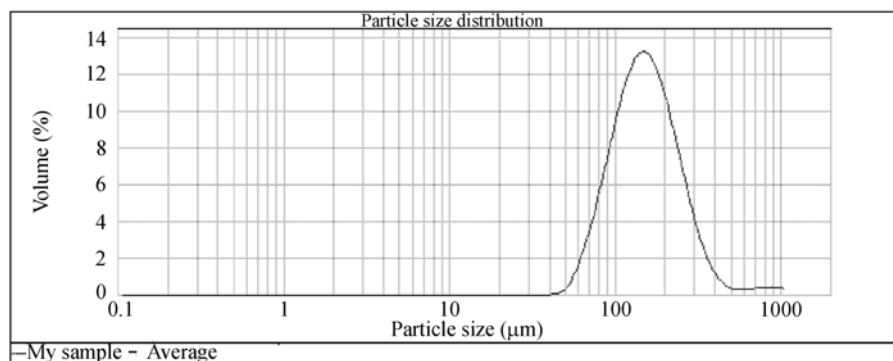


图 1 PS 微球的粒度分布图

Fig. 1 Distribution of particle size of PS porous microsphere.

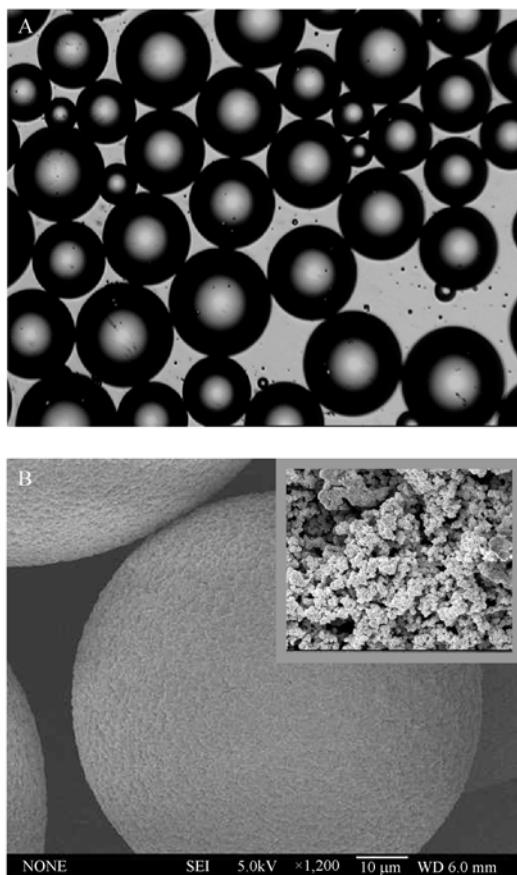


图2 PS微球的光学显微镜照片(A)和电镜扫描照片(B)  
Fig. 2 Microscopic images of PS porous microspheres (A) and SEM image of PS porous microspheres (B).

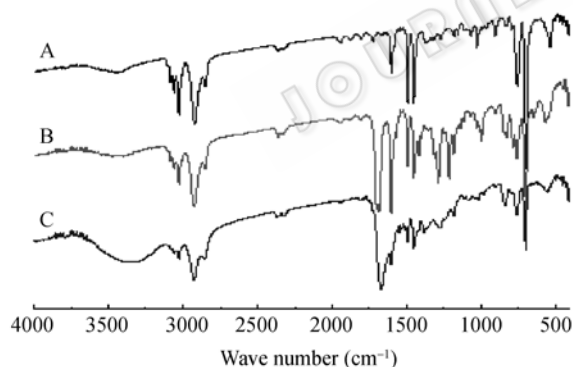


图3 PS(A)、PS-Ace-Cl(B)、PS-Ace-DETA(C)的红外光谱  
Fig. 3 IR spectroscopy of PS(A), PS-Ace-Cl (B) and PS-Ace-DETA (C).

## 2.2 反应条件对氯乙酰化反应的影响

Friedel-Crafts 反应制备氯乙酰基聚苯乙烯有以下优点: 1)氯乙酰氯中的酰基基团使氯的反应活性大于氯甲基上的氯; 2)酰基基团对苯环有钝化作用, 在苯环的亲电取代中不易发生多取代反应, 得到的树脂结构简单; 3)避免了使用致癌原料氯甲醚, 使反

应过程更加安全。

### 2.2.1 反应溶剂对氯含量的影响

由表 1 可知, 各溶剂中进行氯乙酰化反应得到氯球氯含量的大小顺序为:  $\text{CS}_2 > \text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}_2 > \text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 由于在不同的溶剂中, 溶剂对 PS 球具有不同溶胀度, 使 PS 球内部具有不同的孔隙空间, 影响了反应的进行, 因而在不同溶剂中反应得到的 PS-Ace-Cl 球的氯含量不同。

表 1 溶剂对氯含量的影响

Table 1 The effect of solvent on the mass of chlorine

Solvent	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{CS}_2$
Mass of chlorine(%)	10.85	11.87	12.92

### 2.2.2 催化剂用量对氯含量的影响

由图 4 可知, 当 Cat/Reg 小于 1 时, 随着催化剂用量的增加, 反应得到的氯球中 Cl 元素的质量分数增加较快; 当 Cat/Reg 大于 1 之后, 氯含量基本不再随催化剂用量的改变而改变。AlCl<sub>3</sub> 与 Reg 在反应过程中形成络合物, 再与苯环上的 H 反应, 将氯甲基引入 PS 微球。由于 Reg 的量一定, 随着 Cat 量的增大, 结合位点增多, 因而氯含量增大。当 Cat 量增大到过量时, 没有 Reg 与其配位, 反应受限, 氯含量不再增大。

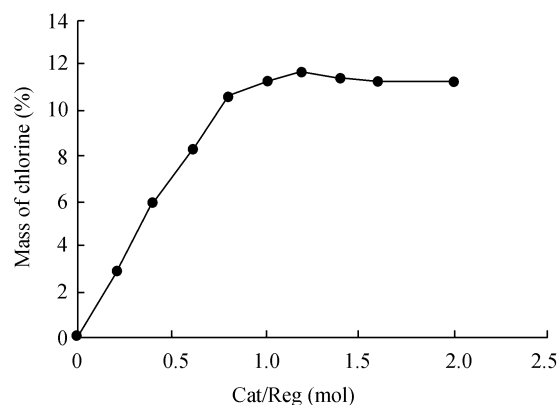


图4 催化剂用量对氯含量的影响

Fig. 4 Effect of amount of catalyst on mass of chlorine.

### 2.2.3 酰化剂用量对氯含量的影响

从图 5 可知, 当 Reg:PS(mol) 小于 1:1.2 时, 随着 Reg 用量的不断增大, 氯含量不断增大; 当 Reg: PS 提高到 1:1.2 时, 反应进行得更加充分, 氯含量也有所提高; 从图中还可以看出, 当酰化剂的用量增大

到 1:1.3 时, 氯含量不再增大。

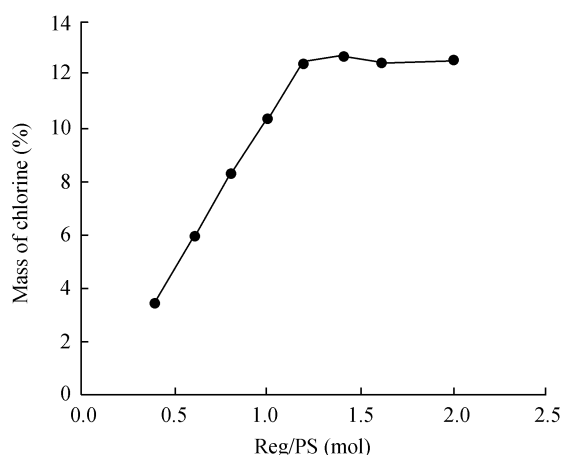


图 5 酰化剂用量对氯含量的影响

Fig. 5 Effect of amount of acetylation reagent on mass of chlorine.

#### 2.2.4 反应时间对氯含量的影响

在反应的初期阶段, PS 微球表面有足够的可反应的苯环, 随着反应时间的增加, 氯含量不断增高, 在反应的后期, 当 PS 微球表面的苯环逐渐被取代基占据, 反应的位阻增大, 限制了反应的进行, 氯含量不会产生太大的变化。

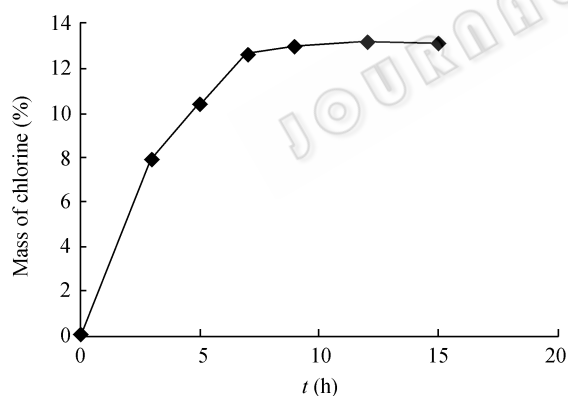


图 6 时间对酰氯化反应的影响

Fig. 6 Effect of reaction time on chloracetylation.

### 2.3 反应条件对胺化反应的影响

#### 2.3.1 溶剂对反应产物的影响

从表 2 中可以看出, 在各种溶剂中反应得到的树脂交换容量相差并不大, 树脂的交换容量不同主要是由于其对氯球溶胀度不同以及对胺化试剂的溶解能力的差异。

表 2 溶剂对反应产物的影响

Table 2 Effect of solvent on product

Solvent	CW (%)	EC (mmol/g)
DETA	64.54	2.9156
Acetone	67.66	2.7659
Toluene	72.57	3.0678
1,4-dioxane	65.53	3.3601

#### 2.3.2 胺化试剂对反应产物的影响

从表 3 中可以看出, 随着胺化试剂所含胺基的增多, 树脂的交换容量逐渐增大。对于多乙烯多胺试剂, 随着胺基的增多, 所得到的树脂其含水量逐渐增大, 从表中还可以看出 ETA 反应所得到的树脂交换容量最低, 但其含水量却高于 DETA 与 TETA, 原因可能是 ETA 反应后引入了 -OH, 使得其亲水性提高, 增大了树脂的含水量。

表 3 胺化试剂对反应产物的影响

Table 3 Effect of amine reagent on product

Reagent	CW (%)	EC (mmol/g)
DETA	63.35	3.0602
TETA	64.88	3.4634
TEPA	66.86	4.1587
ETA	65.63	1.6921

#### 2.3.3 反应时间对反应产物的影响

从图 7 可知, 从反应开始到 8 h, PS-Ace-DETA 的交换容量随时间增加明显增大, 且增加速度很快, 8 h 之后趋于平缓。当反应 8 h 之后, 微球内外表面残留的氯乙酰基和 DETA 浓度的减少, 导致碰撞几率降低, 反应速度变慢。

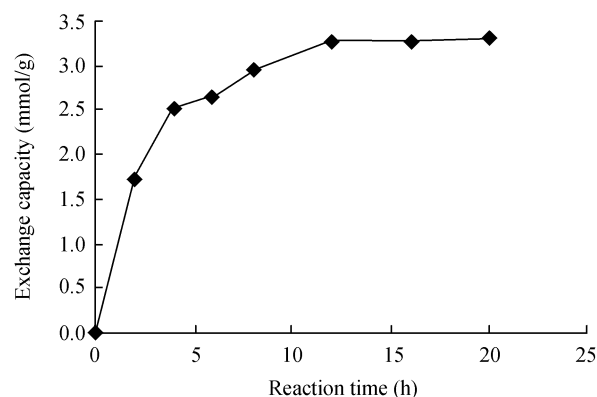


图 7 反应时间对交换容量的影响

Fig. 7 Effect of reaction time on exchange capacity.

### 2.4 树脂对胆红素吸附性能研究

图 8 为不同胺基树脂对胆红素的吸附量, 图中

黑色柱表示游离胆红素的吸附量,斜线柱表示人血清白蛋白(HSA)存在下的胆红素吸附量。含有较多胺基的多乙烯多胺,其含水量和交换容量较高,与胆红素分子的结合位点也越多,吸附量也越高。图中PS-Ace-TEPA树脂对胆红素的吸附量最高,达到30.85 mg/g。由于白蛋白的存在,树脂的吸附量下降3~5 mg/g。一方面是白蛋白与胆红素结合,减少了树脂与胆红素的结合位点,另一方面,由于胆红素与人血清白蛋白形成大分子复合物,向树脂内部扩散渗透更为困难。

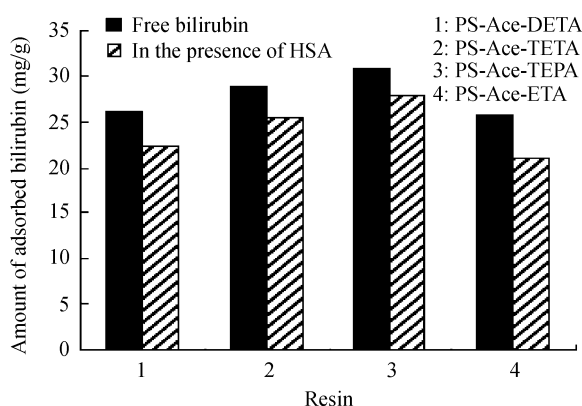


图8 不同树脂对胆红素的吸附量

Fig. 8 Amount of adsorbed bilirubin by different resins. adsorption time: 150 min; adsorption temperature: 37°C; concentration of bilirubin: 198 mg/mL; C(HSA): 510 mg/mL.

图9为不同胺基树脂对胆红素的吸附率,从图中可以看出,PS-Ace-TEPA的吸附率最高,接近80%。在HSA存在的情况下,吸附率下降10%左右。

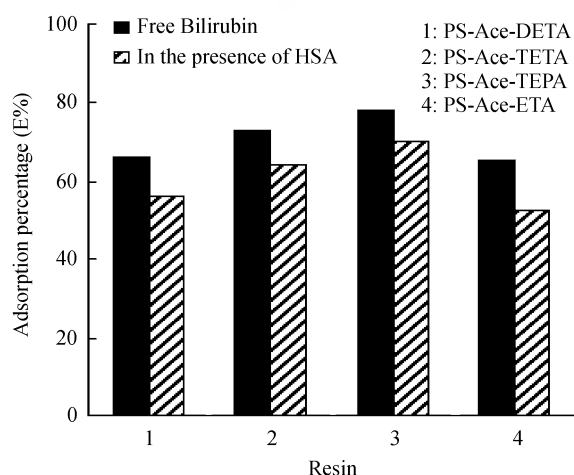


图9 不同树脂对胆红素的吸附率

Fig. 9 Adsorption percentage in 150 min by different Resins. Adsorption time: 150 min; Adsorption temperature: 37°C; Concentration of bilirubin: 198 mg/mL; C(HSA): 510 mg/mL.

### 3 结论

通过对氯乙酰化反应中各影响因素的考察,优化了各个工艺条件。反应得到了氯含量为13%的PS-Ace-Cl。胺化反应可得到一系列较高交换容量和对胆红素有较高吸附量的新型胺基树脂。

胆红素吸附实验结果表明,胺基含量较高的PS-Ace-TEPA对胆红素的吸附性能较好,吸附量可达30 mg/g,吸附率为80%。与文献[12]中报道的胆红素吸附剂相比,其吸附率高出10%~20%。

在HSA存在的情况下,对结合胆红素的吸附量下降3~5 mg/g,吸附率下降了10%。与文献[13]结果比较,胆红素吸附量高出5~10 mg/g。与文献[12]相比,对结合胆红素仍具有较高的吸附率。结果表明本研究制备的新型树脂对游离胆红素和结合胆红素均具有较强的吸附性能。该树脂的吸附特异性、生物相容性等有待进一步考察。

### REFERENCES

- [1] Bouvier M, Brown GR, St Pierre LE. Immobilized replicates of sequence 136-148 of human serum albumin as adsorbents for bilirubin. *Can J Chem*, 1987, **65** (8): 1927-1934.
- [2] Adil D, Mustafa K, Erhan P. Bilirubin removal from human plasma, in a packed-bed column system with dye affinity microbeds. *J Chromatogr B*, 1998, **707**(1-2): 25-31.
- [3] Yuan Z, Wei B, He BL. Studies on the adsorption of bilirubin by adsorbents. *Chem J Chin Univ*, 1999, **20**(6): 903-905.
- [4] Zhang L, Jin G. Bilirubin removal from human plasma by Cibacron Blue F3GA using immobilized microporous affinity membranous capillary method. *J Chromatogr B*, 2005, **821**: 112-121.
- [5] Zhang SN, Gu HQ. The research progress of resins used for bilirubin removal. *Chin J Dial Atrif Organs*, 2007, **18** (2): 26-36.
- [6] He BL, Ma JB. Polymeric adsorbents for blood purification. *Chem J Chin Univ*, 1997, **18**(7): 1212-1218.
- [7] Davankov V, Pavlova L, Tsyurupa M. Polymeric adsorbent for removing toxic proteins from blood of patients with kidney failure. *J Chromatogr B*, 2000, **739**: 73-80.

- [8] Fan YG, Shi ZQ, Shi RF, *et al.* Post-crosslinking reaction of chloromethylated polystyrene with aromatic hydrocarbons. *Ion Exchange and Adsorption*, 1998, **14** (1): 31–35.
- [9] Lu L, Yuan Z, Shi KY, *et al.* Studies on adsorption of bilirubin by crosslinking poly (2-hydroxyethylmethacrylate) adsorbents containing amino group. *Chem J Chin Univ*, 2003, **3**: 454–458.  
卢玲, 袁直, 石可瑜, 等. 含氨基聚甲基丙烯酸羟乙酯树脂对胆红素的吸附性能研究. 高等学校化学学报, 2003, **3**: 454–458.
- [10] Wei B, Yuan Z, He BL, *et al.* Removal of bilirubin by polymeric adsorbents containing amino-group or hydroxyl-group. *Ion Exchange Adsorption*, 1997, **13**(4): 373–377.  
魏斌, 袁直, 何炳林, 等. 含氨基、羟基吸附剂对胆红素的吸附. 离子交换与吸附, 1997, **13**(4): 373–377.
- [11] Shen LH, Yuan Z, He BL. Preparations and applications of polyacrylamide resin. *Ion Exchange Adsorption*, 1996, **12**(1): 85–90.  
申丽华, 袁直, 何炳林. 聚丙烯酰胺树脂的制备与应用. 离子交换与吸附, 1996, **12**(1): 85–90.
- [12] Kenichi Sakagami, T Ohsaki, T Ohnishi, *et al.* Artificial liver support for postoperative hepatic failure with anion exchange resin (BR-601). *Acta Med Okayama*, 1986, **40** (5): 249–255.
- [13] Xu H, Xiao L, Li J, *et al.* Study on adsorption properties for bilirubin of novel aminated chitosan resins. *Ion Exchange Adsorption*, 2003, **19**(6): 489–495.  
徐慧, 肖玲, 李洁, 等. 新型胺基壳聚糖树脂的合成及其对胆红素吸附性能的研究. 离子交换与吸附, 2003, **19**(6): 489–495.

## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

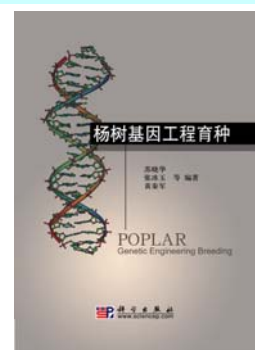
### 杨树基因工程育种

苏晓华 张冰玉 黄秦军 等编著

978-7-03-022956-4 ¥75.00 2009年3月出版

本书首次较为系统、详细、全面地整理和介绍了杨树基因工程育种的最新研究进展。本书分为4章: 第1章主要介绍杨树基因工程育种的研究现状, 主要包括杨树基因克隆研究进展、转基因杨树的研究进展、转基因杨树生物安全性评价的研究现状等; 第2章主要介绍杨树基因克隆的技术、方法和研究成果; 第3章主要介绍转基因杨树新品种的培育技术、方法, 包括抗旱、耐盐、耐涝、抗虫以及多基因共转化杨树新品种的培育历程等; 第4章主要介绍转基因杨树生物安全性评价的技术、方法及评价结果等。

本书适合于从事植物遗传育种的科技工作者、相关专业的高年级本科生和研究生阅读和参考。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 阮芯 联系电话: 010-64034622(带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>