

聚合物支载的常见功能基团的分析鉴定方法

罗君涛, 黄文强^{*}

(南开大学吸附分离功能高分子材料国家重点实验室, 高分子化学研究所, 天津 300071)

摘要:综述了目前用于固相有机合成中聚合物支载的功能基团的各种分析鉴定方法。

关键词:聚合物支载的功能基团; 化学分析法; 仪器分析法; 固相有机合成

组合化学^[1~11]已经成为一种加速药物开发的最有效的途径。其中固相有机合成^[12~14]是组合合成不同化合物库的最重要的工具。在药物开发领域, 聚合物支载的有机合成^[15~21]得到了广泛的重视, 因为这种方法可以快速合成大量的有机小分子类似物, 并从中发现有药物活性的先导化合物。

固相有机合成(Solid Phase Organic Synthesis 以下简称为 SPOS)的主要的优点在于: 它克服了常规有机合成中的中间产物的分离、纯化, 如重结晶、蒸馏和柱色谱分离等的繁琐步骤仅通过过滤洗涤就可以达到分离目的。SPOS 可以通过加入过量的小分子反应物, 使聚合物支载的反应尽可能趋于完全。但是在固相有机合成中, 树脂上的反应中间产物不能直接纯化, 未反应的部分以及副反应物会在树脂上积累, 影响最终的产物纯度。因此在反应过程中, 对树脂上支载的化合物进行定性、定量分析, 跟踪反应过程, 对于研究固相有机反应具有重要的意义。固相有机合成反应中的检测方法大致可以分为两大类: 化学分析方法和仪器分析方法。本文将从这两个方面来介绍固相有机合成中聚合物支载的常见功能基团的检测方法。

1 化学分析方法

化学分析方法主要有显色法、分光光度法、滴定法和选择电极法等。显色法是针对不同的功能基团设计不同的显色反应。固相有机合成中不同结构块之间的构建通常用氨基、羟基、巯基的偶联反应和卤素原子的取代反应实现的。下面按功能基团分类来介绍化学分析的方法。

1.1 氨基的检测

1.1.1 氨基的定性分析

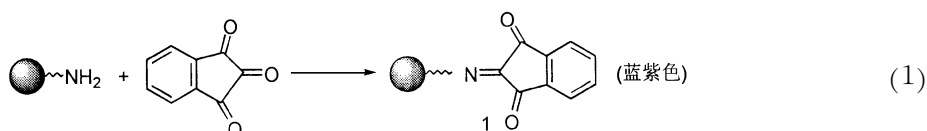
(1) 茚三酮显色法(Ninhydrin Color Test)^[22, 23]

这是一种检测树脂上游离氨基的方法。茚三酮与树脂上的游离氨基反应生成西佛碱(式 1), 使树脂 1 显蓝紫色。根据树脂的变色情况来判断游离氨基的存在与否。这种方法可以检测到 5 μmol/g 的游离氨基含量。这一方法在固相多肽合成中, 用于定性检测树脂上的游离氨基与小分子氨基酸反应是否完全。

基金项目:国家自然科学基金资助课题(批准号:20074017);

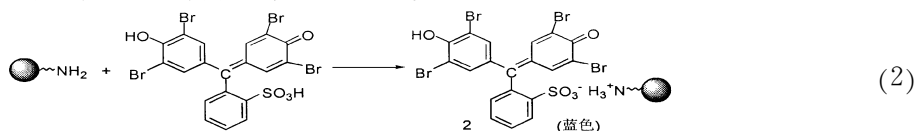
作者简介:罗君涛(1976—), 男, 1998 年从南开大学化学系保送到高分子化学所攻读博士学位研究生, 师从黄文强教授, 研究方向为聚合物载体和固相有机合成;

^{*} 通讯联系人。



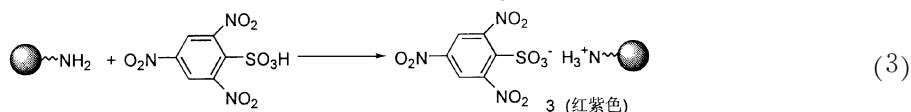
(2) 溴酚蓝显色法(Bromophenol Blue Test)^[24]

溴酚蓝(3',3'',5',5''-tetrabromophenolsulfonphthalein)与树脂上的伯氨基反应,可以使树脂从黄色(429nm)变成深蓝色(600nm)(式2)。用溴酚蓝可以连续检测氨基的酰化反应,即将溴酚蓝溶液加入到氨基酸的酰化试剂中或加入到酰化反应前最后一遍的洗涤液中,树脂就会变成深蓝色,而不会产生副反应。随着反应的进行,树脂颜色会渐渐变为黄色,这时表明氨基已经完全反应。也可以进行不连续检测,即不同时间取出少量树脂进行显色反应。



(3) 2,4,6-三硝基苯亚磺酸(TNBS)显色法^[25]

将 1mg 树脂放入 1ml 乙醇中,加入 1 滴 1%(w/v)的 TNBS/DMF 溶液,然后在室温下放置 20min,再离心 5min,去掉上澄清液。在显微镜下观察,含有游离氨基的树脂 4 呈现红紫色(式3),不含有游离氨基的树脂为钢一样的白色。这种方法可以检测到 3μmol/g 的量级。

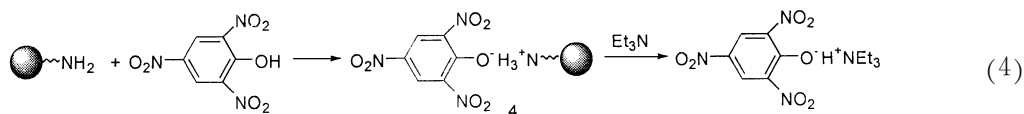


TNBS 法与茚三酮法检测灵敏度相当,比溴酚蓝法灵敏度要高。Hancock 等人详细研究了在多肽合成中,用 TNBS 法来检测氨基含量的效果^[25],并与茚三酮法、溴酚蓝法检测的灵敏度进行比较。

1.1.2 氨基定量分析

(1) 苦味酸法(Picric Acid Test)^[22]

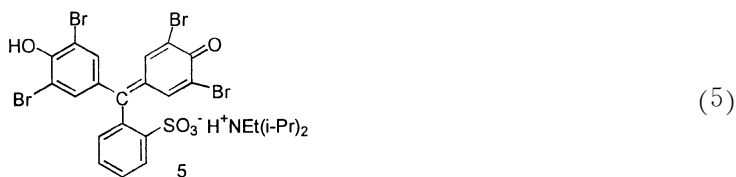
苦味酸可与树脂上的氨基以离子对形式一比一定量结合(式4),洗去吸附在树脂上的苦味酸,再用 15% 三乙胺/二氯甲烷溶液将以离子键结合到树脂上的苦味酸洗脱下来,收集洗液。然后用分光光度计在 358nm 处定量检测苦味酸三乙铵盐的量,可以得到树脂上的氨基含量。



应当注意的是,苦味酸是强酸,所以这种方法不适于含酸敏连接桥体系中氨基的分析。

(2) 溴酚蓝法^[22]

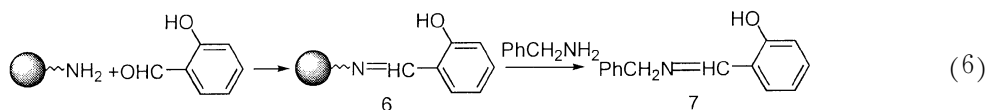
类似于苦味酸法的原理和步骤,溴酚蓝也可以用于氨基的定量分析。氨树脂与溴酚蓝生成蓝色树脂,洗去过量的溴酚蓝后用二异丙基乙胺将溴酚蓝洗脱下来,在 600nm 处测定溴酚蓝的二异丙基乙铵盐 5 的含量。



与苦味酸法和茚三酮法相比,溴酚蓝检测方法的优点是操作简单,可以用同一个试样重复多次检测,得到更可信的结果。其他含有端氨基的缩合反应也可以用此法进行检测。显色剂不会引起其他副反应。

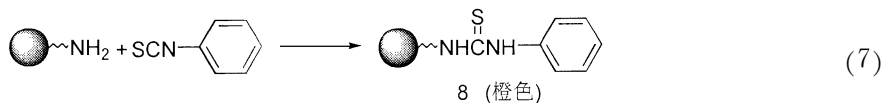
(3) 水杨醛法^[26,27]

此法首先用水杨醛与含氨基的树脂反应,生成树脂支载的西佛碱 6,用溶剂洗去游离的水杨醛。所得到的树脂与苄胺反应,将水杨叉基置换下来(式 6)。以上反应可以等当量进行。溶液中的西佛碱 7 用分光光度计在 315nm 处测量吸光度得到树脂上游离氨基的含量。这种方法可以检测到 $\mu\text{mol/g}$ 的量级。



(4) 对硝基异硫氰酸苯酯法^[28] (NPIT-nitrophenyl isothiocyanate-O-trityl)

此法既可以用于定量也可以用于定性分析树脂上支载的氨基。其显色结果为:含有氨基的正性结果为橙色;不含氨基的负性结果无色。其检测方法与上述各方法类似(式 7)。



(5) 盐酸-吡啶法^[29]

将干净的氨基树脂用 0.3mol/L (pyr/HCl) 的干燥 DCM 的溶液处理,使树脂上的游离氨基全部形成盐酸盐,用 DCM, DMF 洗去过量的吡啶盐酸盐,再用 TEA/DMF 溶液处理,收集洗液并用过量稀硝酸酸化洗涤液,最后用标准硝酸银溶液滴定,所消耗的硝酸银的量就是相应树脂上游离氨基的量。

0.3mol/L 的 Pyr/HCl 不会除去 Boc-保护基团。但是它可以将邻硝基苯亚磺酸保护基团从树脂上解脱下来。因此,采用这种方法之前,需要考虑所用的氨基保护基团是否会被解脱。

1.2 羟基的检测

1.2.1 元素分析及滴定法 测定聚合物支载的羟基负载量常用的方法是将羟基树脂首先与对硝基苯甲酰氯完全酯化反应后,再用元素分析仪测定 N 元素含量,进而算出羟基含量。但是在这一反应过程中容易引入杂质,影响测量的准确性。值得注意的是,一般用于固相有机合成的载体的功能基含量都比较高,对硝基苯甲酰的引入会造成的质量的增加,元素分析的结果需要经过如下式换算:

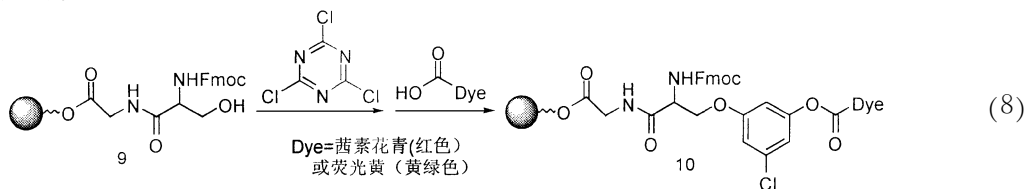
$$C_1(\text{mmol/g}) = \frac{(N\%) \times 10}{14} \quad C_2(\text{mmol/g}) = \frac{C_1}{1 - C_1 \times \frac{F_2 - F_1}{1000}}$$

式中, $N\%$ 为元素分析得到的树脂上的氮含量; C_1 为与对-硝基苯甲酰氯反应后树脂酯的负载量; C_2 为羟基树脂的羟基含量; F_1 为 OH 基上的 H, 其值为 1; F_2 为对-硝基苯甲酰基的式量。

另外可以用乙酸酐来代替对硝基苯甲酰氯。在检测过程中,过量的乙酸酐与羟基树脂反应,然

后用标准碱溶液来反滴过量的酸酐和反应过程中生成的乙酸,从而计算出固载的羟基功能基含量。

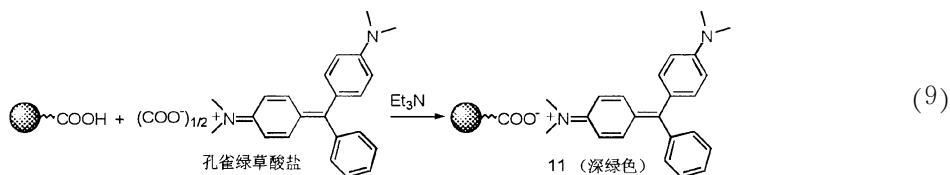
1.2.2 显色法 为了克服上述的缺陷,同时也可以找到相互的验证方法,Attardi^[30]等人采用 2,4,6-三氯代-[1,3,5]三嗪/染料(TCT+dye)的方法来检测羟基,可以直接的用肉眼观测颜色,来判定固载的游离羟基的存在与否。TCT 是一种含有三个活泼氯的三嗪,它起到一个桥梁的作用,将羟基与染料连接起来,从而使树脂 9 染上颜色(式 8)。TCT 与树脂上的游离羟基在室温下 10min 即可反应完全。另一个氯可以和含有羧基的染料,茜素花青(AlIR)或荧光黄(Fluorescein),在几分钟之内完全反应,使树脂显红色或黄绿色。在显色过程中最好做一个空白样品作为对照,这样就可以做羟基的定性分析。



这种方法也可以对固载到树脂上的游离羟基做定量分析。羟基(碳端固载的氨基保护的丝氨酸)可以和二甲氧基三苯甲基氯(DMT)反应(吡啶中,3h),在此过程中用 TCT-AlIR 作为指示剂,直到显色反应呈阴性(不显色)。多次洗涤树脂后,用 3%三氯乙酸将二甲氧基三苯甲基从树脂上以离子形式解脱下来,然后用分光光度计在 503nm 处检测吸光度,可得到羟基的固载量。这种方法与用 Fmoc-检测结果有很好的-致性,偏差小于 3%。定量 DMT 反应耗时较长,但这种方法所用的试剂都不是很昂贵,可以买到,因此是一种比较简单的方法。

1.3 羧基的显色定性分析^[31]

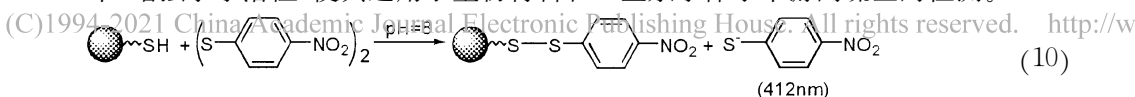
含有亚胺基的碱性染色剂孔雀绿(MG, Malachite Green)是一种很有效的羧基指示剂。孔雀绿与羧基以离子对的形式结合,使树脂 11 变绿(式 9)。首先将干净树脂置于含有 0.25%孔雀绿草酸盐的乙醇溶液中,然后加几滴三乙胺。2min 后,用甲醇或乙醇洗涤树脂多遍。同时作一个空白实验,二者对照,有羧基的树脂变成深绿色。这种方法可以用于各种支链羧基、芳香羧基以及用酰胺固载到树脂上的羧基,甚至可以检测脲基的衍生物。



但是,这种方法不能进行定量分析。用含有羧酸的 DFM 溶液处理树脂时,得到的溶液对光很不稳定,用紫外检测时得到的结果重复性很差。

1.4 游离巯基的检测^[32]

双对硝基苯二硫醚[BNDS, bis(p-nitrophenyl)disulfide]与脂肪硫醇在 pH=8.0 的条件下反应生成对硝基硫酚负离子(式 10)。这种离子有很深的颜色,在 412nm 处有很强的吸收($\epsilon_n=13600$)。但是双对硝基苯二硫醚的水溶性很差,需要溶于丙酮中,这样就限制了其在水溶性的材料,尤其是生物材料中的应用。但是这刚好适用于聚苯乙烯树脂等亲油体系中的游离巯基的检测。Ellman^[32]将羧基引入 BNDS 中,增强了水溶性,使其适用于生物材料和一些亲水体系中游离巯基的检测。

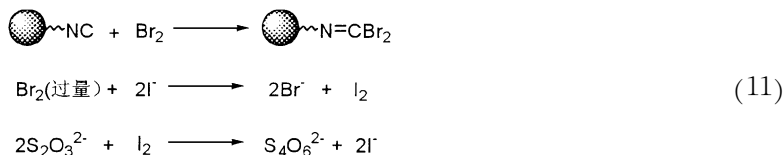


1.5 滴定法定量检测^[33]

对于聚合物支载的羧酸可以直接用酸碱滴定的方法得到很准确的结果。聚合物支载肽上的游离氨基可以用非水酸碱滴定法进行测定。聚苯乙烯支载的氯硅烷、磺酰氯可以用过量的标准碱液加热水解,然后用标准酸溶液回滴就可以得到准确的含量。

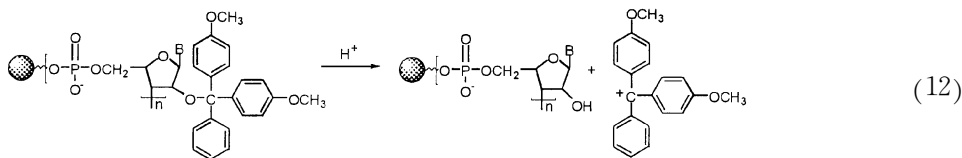
在许多固相有机反应中,常常通过亲核取代反应而释放出容易测定的基团。如 Merrifield 树脂上的氯甲基被强亲核试剂取代后,树脂上的氯转变成氯离子,然后用硫氰酸钾做指示剂,用硝酸银溶液滴定(Volhard 滴定法),就可以得到聚合物支载氯的含量^[34]。

另外固载的氧化剂,如过酸,可以用碘量法测定。其方法是将树脂悬浮在有机试剂,如二氯甲烷中,然后用酸化的碘化钾处理,当碘完全释放后用常规的硫代硫酸钠法滴定。异氰酸基团首先用过量的溴进行溴化,过量的溴用碘量法进行反滴。反应过程如式 11 所示。



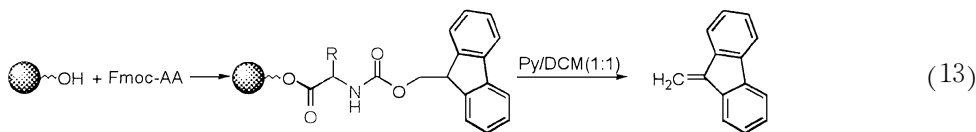
1.6 二甲氧基三苯甲基法^[22] (DMT, dimethoxytrityl)

另一类的化学检验方式是通过检测从树脂上解脱下来的保护基团或辅助小分子的含量来体现反应的进行情况。DMT 法是检测固相支载游离氨基或羟基的常用方法。DMT 多用于合成寡聚核糖中对糖羟基的保护。在酸性条件下,DMT 形成碳正离子,在 498nm 处进行定量检测(式 12)。聚合物支载的氨基的三苯甲基化只需 30s,去三苯甲基时,在 2% 的 DCA 中,2min 就可以完成。



1.7 Fmoc 的定量检测^[22]

在 Fmoc 保护氨基酸参与的酰化反应结束后,洗去游离的氨基酸,聚合物支载的 Fmoc 可以在吡啶/二氯甲烷(1:1)溶液中 30min 解脱下来(式 13),然后在 301nm 波长下检测从树脂上解脱下来的 Fmoc 含量,从而反推出树脂上固载的氨基含量。



2 仪器分析技术在固相有机合成中的应用

相对化学分析方法,仪器分析方法可以自动化、操作简便、人为误差小、重现性好,可检测聚合物固载的化合物结构,而化学分析方法仅限于少数几种官能团和几个特征元素含量的分析。但化学分析仍有其独特的优势:易于定量,在简单的实验室条件下就可以进行。二者可以相辅相成,相互佐证。

下面介绍几种主要的仪器分析方法和技术。

2.1 核磁共振谱法(NMR)

固相核磁共振谱图的分辨率一般由三个因素决定^[35]:(1)样品的溶胀度,不同的溶剂会影响谱图的线宽;(2)样品核磁感应强度的差异;(3)探头内部磁感应界面的连贯性。溶胀树脂的非均相部分有不同的磁敏感性,因此会出现谱线变宽的现象。在用核磁研究一些非均相的样品,包括粉末状固体^[36],非均相固-液混合物^[37],膜材料等^[38]的过程中,人们发现,当样品在磁场中以一定的角度旋转时,磁感应变宽的现象就会消失。这就是魔角旋转(MAS, Magic Angle Spin)技术。

MAS 技术就是用来消除化学位移的各向异性和平均偶极极化作用,而磁敏感性并没被充分的考虑进去。传统的样品管很大,但当样品很少,不足以充满整个有效空间时,会在旋转样品时导致峰形的扭曲。于是出现了纳米探头。这种探头小到可以将样品充满整个接受线圈。同时可以结合高速的旋转、不同的温度范围,在 500MHz 下可以得到线宽小于 0.5Hz 的固态氢谱,而常规的 MAS 探头只能得到线宽为 5Hz 甚至更宽的谱图。

Paul 等人^[35]分别用三种不同的探头分析了溶胀的 TG 树脂的¹H 的核磁共振谱,谱图效果对照如下表 1 所示。

表 1 不同的探头分析溶胀的 TG 树脂的¹H 的核磁共振谱的线宽比较

	液体探头	CP/MAS 探头	¹ H nanoMAS 探头
母体和有机组份的线宽	100~300Hz	100Hz	11Hz
溶剂线宽(DCM)	不能分辨	65Hz	3.5Hz

同时他们还用这三种技术检测了 1%交联 Wang 树脂的¹³C NMR 谱图,并比较了谱图中几处特征的谱线的线宽,如下表 2 所示。

表 2 不同的探头检测 1%交联 Wang 树脂的¹³C NMR 谱图的线宽比较

	常规探头	CP/MAS 探头	¹³ C nano-MAS 探头
样品重量(干)	91.1mg	20.2mg	5.4mg
溶剂(CD ₂ Cl ₂)	4.5Hz	11.6Hz	4.4Hz
树脂珠体共振	22Hz	11.3Hz	6.1Hz
羰基	36.0Hz	9.5Hz	5.4Hz
特丁酯	6.9Hz	11.0Hz	4.0Hz

从上面两个表的比较,我们可以看到对于小分子溶剂,nano MAS Probe 可以得到与传统探头相当,甚至线宽更窄的谱线;对于树脂骨架和固载的有机部分,纳米 MAS 探头可以得到更窄的线宽和更灵敏的信号。这样,固相有机合成过程中,树脂上的反应物可以直接用 NMR 技术进行灵敏、准确的监测。

二维异核相关核磁共振谱(HETCOR)可以确定样品中 C 和 H 原子的相对位置;同核位移相关二维谱(COSY)可以确定相邻的碳原子上的氢的位置关系。¹³C NMR 弛豫时间谱可以用来研究支载的链段或有机部分的运动,Ernst 等人^[39]研究了三肽甲酯及其固载类似物的 α 碳原子的¹³C NMR 弛豫时间 T₁ 的不同,并从理论上解释了弛豫时间与链段的运动灵活性的关系。

2.2 红外技术和红外新方法

2.2.1 红外光谱技术

红外光谱技术通常有以下几种:

A· 溴化钾压片制样的常规傅立叶红外光谱法。

B. 弱光束的红外光谱技术(Beam Condenser IR)。

C. 衰减全反射红外技术^[40](Macro-ATR IR)。

D. 漫反射傅立叶红外技术^[41](DR-FT IR)。

E. 单树脂珠体傅立叶红外显微分光光谱技术(Single Bead FTIR Micro-Spec)。

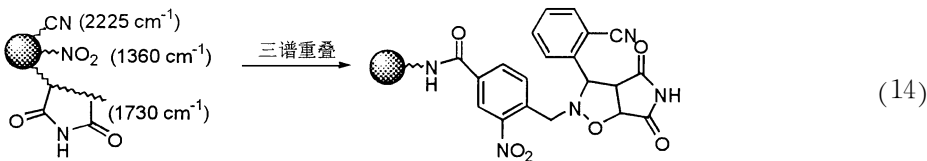
F. 声光红外光谱技术(AP-FT IR)。

在这些技术中漫反射红外技术^[41]和单球傅立叶红外显微分光光谱技术^[42-43]在固相有机合成的检测中应用较广泛。

2.2.2 两种红外新方法

A. 傅立叶红外扫描法^[44]

傅立叶红外扫描图法是一种用于表征聚合物支载的组合合成库的新型空间分辨方法。在一个溴化钾载片上($3 \times 3 \text{ cm}^2$), 嵌入一些树脂球。将扫描波长固定在某一官能团的特征吸收波长处, 用 X-Y 两个方向可以自动移动的红外探头, 进行横向到纵向的扫描, 得到一张扫描图。图上有信号吸收的地方即为具有此吸收的官能团的树脂。谱图上的坐标即为树脂上溴化钾载片上的平面位置。用这种技术可以直接将混分法生成的库中不同产物的树脂区分出来, 然后进行解脱或其他的分析。还可以将这种方法与生物活性的检测方法结合起来, 实现检测的自动化和连续化。



如上式 14 所示的混分法合成的化合物库的检测过程中, 分别选择三个不同官能团的特征吸收波长: $-\text{CN}$, 2225 cm^{-1} ; $-\text{C}=\text{O}$, 1730 cm^{-1} ; $-\text{NO}_2$, 1360 cm^{-1} ; 进行三次扫描, 得到三张谱图, 然后将三张谱图重叠起来, 信号能完全重叠的树脂就是混分法合成中含如上结构产物的树脂 12, 其数目代表了此产物的量。

这是一种空间分辨, 无破坏的表征方法, 可以达到对树脂的识别, 并将树脂区分开来。然后结合质谱等技术, 这样可以省去固相合成中对树脂上化合物标记的复杂工作。红外扫描技术还可用于微量生物活性检测过程中, 对少量化合物库进行活性组分简单结构的确认。

B. 近红外散射光谱法——原位检测法

近红外光谱含有大量倍频吸收和各个基本振动的混合吸收, 所以, 近红外光谱较中红外光谱, 吸收不够强, 重叠较重, 而且吸收峰较宽。但近红外可以透过玻璃仪器, 不引起吸收。近红外可以被粒子散射, 而且对散射光的检测可以得到物理(粒径大小)或化学信息(图 1)。树脂聚集在玻璃仪器底部, 散射光对溶液相小分子的吸收很弱。于是散射光中就印有了树脂上化合物的结构信息。

Hammond 等人用这种方法研究了聚合物支载的羟基在与乙酸酐酯化反应的随时间变化的过程和反应动力学^[45]。

2.3 质谱

随着新技术的发展, 质谱技术已经成为检测固相有机反应常用高效的方法之一。下面介绍几种应用于固相检测的质谱技术。

2.3.1 矩阵式激光发射/火焰离子化-飞行时间质谱(MAL-DI-TOF MS) 有文章^[46]报道了如何用矩阵式激光发射/火

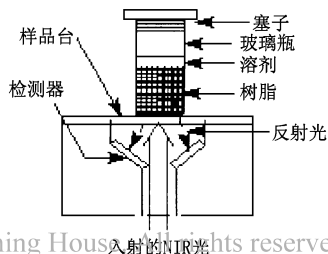


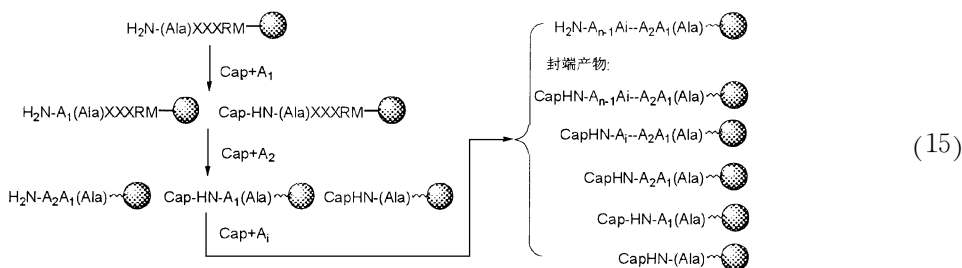
图 1 近红外散射光谱测定装置示意图

焰离子化-飞行时间质谱来分析树脂上支载的产物。MALDI 质谱并不是一种真正在树脂上检测方法。其过程是从混合体系中取出一颗树脂,然后放进充满 TFA(三氟乙酸)气的密封室内,从树脂上解脱出少量的化合物。其间借助 337nm 的激光照射树脂,产生解脱产物的分子离子,然后再进入质谱仪分析系统,进行检测。树脂上只有大约 1%左右的化合物被解脱,原则上树脂还可以进一步检测和反应。

文献^[46]中报道了用 MALDI-TOF 质谱来分析两种多肽的固相合成过程。从质谱图上,可以清晰看到生成的多肽,以及未反应完全的中间体和副产物的分子离子峰,从而可以跟踪反应过程是否按照设计路线进行,判断副反应占多大比重。

溴化氰解脱已经用于多肽库的快速测序^[47]。在混分法进行多肽合成过程中,每一颗树脂球上合成了一种序列的多重肽链。Youngquist 等人将组合合成中的编码技术与质谱技术结合起来,开发出一种针对多肽化合物库的扫描测序。其原理如式(15)所示。

在偶联每一个氨基酸的过程中,都将少量(10%)氮端封端剂(*N*-乙酰基丙氨酸)分别与待偶联的氨基酸混合,每一步反应后,树脂上都会留下一部分氮端惰性的肽链残基,不能进行下一步反应。合成结束以后,将单个树脂球放在微型离心试管中,用 CNBr 处理(多肽碳端为甲硫氨酸,生成单个精氨酸酮),从树脂上解脱得到一系列不同长度的肽链。这些肽链混合物用 MALDI 可以精确的检测出来。每两个相邻离子峰之差就代表了这个序列上的氨基酸种类。这样从质谱图上可以直接从小到大的读取氨基酸的序列。只有 5%的肽混合物从树脂上解脱下来就足够用于 MALDI-TOF MS 检测,说明这种方法的高灵敏度。同时检测过的树脂经洗涤后,还可以做其他方面的检测或继续合成更长的肽链。



2.3.2 飞行时间-二级离子质谱(TOF-SIMS) TOF-SIMS 可以直接监控在不同的载体上的肽合成过程,如:PS, Ployamide, 和 Plastic pins 等。Enjalbal 等人用 TOF-SIMS 检测并定量检测了多肽合成过程中的副产物^[48]。固体样品可以直接用一级离子束进行轰击,产生具有样品表面特征的二级离子。最容易接近的氮端相连的部分可以产生很丰富的离子。用一级离子轰击树脂时,去保护反应或耦联反应随之发生,氨基保护基团和组成肽链的氨基酸就会在质谱检测中表现出各自的特征离子峰。于是,通过共价键或离子键结合到树脂上的氨基酸就可以通过一级离子源轰击后产生的特征二级离子而得以区别和检测。

2.4 燃烧元素分析方法

元素分析是一种无谱的分析方法。树脂上含有可鉴定的特征元素,如 C、H、N、S、Cl 等元素时,通过燃烧,检测燃烧后相应的生成物或残余物的量,从而确定树脂上功能基的负载量。通常用它来确定树脂的功能基负载量,也可以进一步确认化合物的结构。已有应用这种方法分析树脂上的化合物的报道^[49]。文章中列举了一系列化合物的检测结果,与理论值比较偏差很小,而且重复性很好。

其缺点是树脂上的杂质、未反应完全的中间体和树脂上吸附的溶剂、小分子试剂等都会对元素分析结果造成影响。元素分析结果会受树脂骨架元素背景的影响,适用元素种类范围有限,不能反映聚合物支载化合物的结构。

2.5 离子选择电极法

Patek 报道^[50]了用高氯酸阴离子选择电极来检测树脂上支载的碱性功能基的含量。用 TG 树脂合成肽和聚胺过程中,用大量的 1% 高氯酸处理树脂,得到易于用电极检测的高氯酸根离子。高氯酸根离子被定量结合到树脂上去,再用碱液将高氯酸根解脱下来,然后用高氯酸根离子选择电极定量分析,就可以得到树脂上碱基的含量。这种方法可以检测如下碱性基团:伯、仲、叔胺、氧羰基酰胺、脒基、胍基、咪唑以及富含电子的 *N*-二烷基苯胺。但不能检测吡啶、苯胺、酰胺。

这种方法的缺点在于铵盐正离子不同程度的水解,会给检测带来误差。另外,检测的温度与标准参考电势温度要一致,温度相差 1 度就会带来 3% 的误差。

2.6 荧光法(Fluorescence)

荧光法可以用来分析树脂上功能基含量或者用来计算反应的产率。首先树脂上的化合物要含有功能基团,然后再选择可以与之反应的荧光活性染色分子。如测试含有醛(酮)羰基的化合物时,可以选择丹黄酰肼对树脂进行染色^[51]。将过量的丹黄酰肼加入到含醛(酮)树脂(PS 或 TentaGel)的 DMF 悬浮液中,然后用荧光光度计跟踪悬浮体系中丹黄酰肼随时间的变化。丹黄酰肼的吸收峰逐渐衰减,最后恒定,表明这时树脂上的羰基反应完全。根据消耗的丹黄酰肼的量可以计算出树脂上醛(酮)的含量,还可以进行动力学研究^[52]。

荧光方法的缺陷首先是染色基团有限;其次,树脂上的化合物必须具有适当的基团,才能容易被染色,有时彻底染色要花费很长时间,这个问题会影响定量分析。同时树脂对染色分子的吸附也会对定量分析造成影响。染色后的树脂不能用于后续的反应,所以是一种破坏性的方法。

3 结束语

聚合物支载的化合物的分析问题一直是固相有机合成和组合化学领域研究的重要课题之一。化学法虽然分析过程比较繁杂,但这些方法能够准确提供许多质量信息。化学反应加比色法可以很简单地得到定量的数据,甚至可以对反应进行监控。现代仪器分析方法的建立大大加速了聚合物支载的化合物的检测过程,具有样品用量少、结果准确、重复性好的优点。不管是化学方法还是仪器分析方法,开发出新的在树脂上快速、准确的原位分析鉴定技术仍然是固相有机合成领域研究的重要课题。

参考文献:

- [1] Guang G, Beck-Sickinger A G. *Angew Chem, Int Ed Engl*, 1992, 31, 367.
- [2] Pabia M R, Sawyer T K, Moos W H. *Bioorg Med Chem Lett*, 1993, 3, 387.
- [3] Gorodon E M, Barrett R W, Dower W J, et al. *J Med Chem*, 1994, 37, 1385.
- [4] Czarnik A W. *Chemtracts; Org Chem*, 1995, 8, 13.
- [5] Thompson L A, Ellman J A. *Chem Rev*, 1996, 96, 555.
- [6] Dewitt D H, Czarnik A W. *Acc Chem Res*, 1996, 29, 114.
- [7] Still W C. *Acc Chem Res*, 1996, 29, 155.
- [8] Balkenhohl F, Bussch-Hunnefeld C, Lansky A, et al. *Angew. Chem, Int Ed Engl*, 1996, 35, 2288.

- [9] Lam K S, Lebl M, Krchnak V. *Chem Rev*, 1997, 97, 411.
- [10] Fenniri H. *Curr Med Chem*, 1996, 3, 343.
- [11] Trautwein A, Bauser M, Frushtel J, et al. *Chem Tech Lab*, 1997, 45, 158.
- [12] Bayer E, Mutter M. *Nature*, 1972, 273, 3155.
- [13] Bonora G M, Scremin C L, Colonna F P, et al. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18, 3155.
- [14] Han H, Wolfe M M, Brenner S, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92, 6419.
- [15] Fridkin M, Patchornik A, Katchalski E. *J Am Chem Soc*, 1966, 88, 3164.
- [16] Leznoff C C. *Chem Soc Rev*, 1974, 3, 65.
- [17] Leznoff C C. *Acc Chem Res*, 1978, 11, 327.
- [18] Crowley J I, Rapoport H. *Acc Chem Res*, 1976, 9, 135.
- [19] Frechet J M J. *Tetrahedron*, 1981, 37, 663.
- [20] Hodge P. In *Synthesis and separations using functional polymers*; Sherrington D C and Hodge P (Eds.), Wiley, Chichester, U.K., 1988, Chapter 2.
- [21] Brown R C. *Org Synth*, 1997, 4, 216.
- [22] Bunin B A. *Combinatorial Chemistry Index*, Academic press, San Diego, 1998, Chapt 5, 213.
- [23] Kaiser E T, Colesoff R L, Bossinger C D, et al. *Anal Biochem*, 1970, 34, 595.
- [24] Krchnak V, Vagner J, Safar P, et al. *Collect Czech Chem Commun*, 1988, 53, 2542.
- [25] Hancock W S, Battersby J E. *Anal Biochem*, 1976, 71, 260.
- [26] 李赫. 硕士研究生毕业论文. 天津: 南开大学, 1988, 第二章, 51.
- [27] 邹永水, 钱肖员. *生物化学与生物物理进展*, 1978, 4, 12.
- [28] Chu S S, Reich S H. *Bioorg Med Chem Lett*, 1995, 5, 1053.
- [29] Linneaus C D. *Tetrahedron Lett*, 1969, 28, 2319.
- [30] Attardi M E, Falchi A. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41, 7395.
- [31] Attardi M E, Porcu G. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41, 7391.
- [32] (a) Virgilio A A, Ellman J A. *J Am Chem Soc*, 1994, 116, 11580; (b) Ellman G L, *Arch Biochem Biophys*, 1959, 82, 70.
- [33] 黄文强. 反应性高分子在有机合成和分离中的应用(讲义).
- [34] Chen C, Randall L A A, Miller R B, et al. *J Am Chem Soc*, 1994, 116, 2661.
- [35] Kelfer P A, Valtusis L, Rice D M. *J Magn Reson Ser A*, 1996, 119, 65.
- [36] Stoll M E, Majors T J. *J Phys Rev B*, 1981, 24, 2859.
- [37] Dorskocilova D, Tao D D, Schneider B. *Czech J Phys B*, 1975, 25, 202.
- [38] Forbes J, Bowers J, Shan X, et al. *J Chem Soc Faraday Trans 1*, 1988, 84, 3821.
- [39] Bayer E, Albert K. *Macromolecules*, 1990, 23, 1937.
- [40] Yan B. *J Comb Chem*, 1999, 1, 46.
- [41] Chan T Y, Chen R, Sofia M J, et al. *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 2821.
- [42] 吴强, 杨淑珍, 罗君涛, 等. *光谱学与光谱分析*, 2000, 20, 606.
- [43] Yan B, Gremlich H-U. *J Chromatogr B*, 1999, 725, 91.
- [44] Haap W J, Walk T B, Jung G. *Angew Chem Int Ed*, 1998, 37, 3311.
- [45] Hammond J, Kellam B, Moffat A C, et al. *Anal Commun*, 1999, 36, 127.
- [46] Egner B J, Langley G J. *J Org Chem*, 1995, 60, 2652.
- [47] Youngquist R S, Fuentes G R, Lacey M P, et al. *J Am Chem Soc*, 1995, 117, 3900.
- [48] Enjalbal C, Maux D, Subra G, et al. *Tetrahedron Lett*, 1999, 40, 6217.
- [49] Yan B, Jewell C F Jr, Myers S W. *Tetrahedron*, 1998, 54, 11755.
- [50] Patek M, Bildstein S. *Tetrahedron Lett*, 1998, 39, 753.

- [51] Yan B, Li W. J Org Chem, 1997, 62, 9354.
[52] Yan B, Martin P C, Lee J. J Combin Chem, 1999, 1, 78.

Methods of Analysis and Identification of Polymer-supported Functional Groups

LUO Jun-tao, HUANG Wen-qiang^{*}

(State key Laboratory of Functional Polymer Materials for Adsorption and Separation,
Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: This review introduced the various methods of detection and identification of polymer-supported functional groups in solid-phase organic synthesis.

Key words: Polymer-supported functional groups; Chemical analysis methods; Instrument analysis methods; Solid phase organic synthesis

(上接第 51 页)

- [36] Lee D H, Lee K B, Noh S K, et al. Macromol Rapid Commun, 1995, 16, 265.
[37] Miyashita A, Mabika M, Suzuki T. Proc Int Symposium on Synthetic, Milano, Italy, 1994.
[38] Pellicchia G, Longo P, Grassi A, et al. Makromol Chem Rapid Commun, 1987, 8, 227.
[39] Soga K, Monoi T. Macromolecules, 1990, 23, 1560.
[40] Soga K, Nokatani H. Macromolecules, 1990, 23, 957.
[41] Xu J T, Ouyang J Y, Fan Z q, et al. Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry, 2000, 38, 127.

Development of Catalysts for Syndiotactic Polymerization of Styrene

SHEN Zhi-gang^{1,2}, LIN Shang-an¹

(1. Institute of Polymer Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;
2. Shanghai Research Institute of Petrochemical Technology, Shanghai, 201208, China)

Abstract: The current development of catalysts used for syndiotactic polymerization of styrene has been reviewed. This paper focused on some high active catalysts including cyclopentadienyltitanium, indenyltitanium, fused-ring titanium, fluorinated-titanium and non-metallocene titanium. The different activity of catalysts was explained with the electron and steric effect of substituents and the stability of active species.

Key words: Syndiotactic polystyrene; Catalysts; Metallocene-titanium; Review