

固相合成及组合化学用的高聚物载体

黄 强, 隆 泉, 郑保忠*

(云南大学材料科学与工程系, 昆明 650091)

摘要:综述了用于固相合成及组合化学的高聚物载体的制备方法、特征、应用和最新进展, 重点介绍了目前广泛用作固相载体的交联聚苯乙烯树脂、聚酰胺树脂和 TentaGel 树脂, 并对几类新型载体如聚乙二醇、聚四氢呋喃衍生物交联剂改性的聚苯乙烯树脂、非芳环体系的 POEPOP 树脂和 SPOCC 树脂作了简要的概述。

关键词:组合化学; 固相合成; 高聚物载体; 聚苯乙烯树脂

新药研究与开发具有重大的社会效益和经济效益, 从天然或合成的化合物库中寻找先导化合物, 进行结构改造, 至今仍是开发新药物的一个极为有效的方法。但是, 这样一种基于单一合成的传统方式, 在合成化合物的数量上, 已经无法满足当今全球经济发展和进步对新药的日益要求。特别是快速、高效的药物筛选技术高通量筛选 (high throughput screening) 确立以来, 如何在短期内、简便快捷地合成化合物库已成为药物研究首要解决的问题。应这一趋势, 于上世纪 90 年代初基于固相合成多肽方法^[1]发展起来的组合化学技术近年来取得了瞩目进展, 已经成为多肽、蛋白质、寡聚糖、寡聚核苷酸等天然聚合物合成的常用方法^[2]。固相合成具有产物易分离纯化、可以使用过量反应试剂获得高产率等优点, 而组合化学技术可以一次性平行合成多种化合物, 两者的结合表现出了经典液相合成无法比拟的优越性。目前固相组合化学的研究重点从模拟天然聚合物合成转向分子多样性小分子化合物库合成^[3], 并且在医药、农业、化学及功能材料的创制^[4]等方面日益发挥着重要的作用, 成为一种可靠的、高效的重要开发工具。

在固相组合合成技术中, 正确选择合适的不溶性聚合物载体是合成策略的关键所在。与传统的液相合成方法比较, 固相载体的引入改变了化学反应发生的化学环境, 如果固相载体所提供的反应环境与化学反应要求的环境不兼容, 将严重影响反应的收率甚至使反应难以进行。固相载体需要满足的普遍要求是: (1) 合成过程中的物理和化学条件必须是稳定的; (2) 必须包含反应活性位点, 以使目标化合物连接到载体上; (3) 溶剂必须具有足够的溶胀性, 以使试剂能接近活性位点; (4) 必须可以用较温和的反应条件使目标化合物从固相载体上选择性卸脱下来。

目前, 广泛用作固相载体的不溶性高聚物材料主要有交联聚苯乙烯、聚酰胺及 TentaGel 树脂, 它们一般被制成直径 80~200 μm 的球状小颗粒, 通常称为树脂珠。近年来, 一些新型的固相载体被开发出来, 如超支化的聚酰胺树脂、聚乙二醇衍生物交联剂改性的树脂和非芳环体系的树脂等。

1 聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂

聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂 (PS-DVB) 最早由 Merrifield^[1]用于固相多肽合成, 因其化学性质稳定, 并具有热稳定性和机械硬度好等优点, 目前仍是固相有机合成中使用最广泛的载体树脂, 其结

作者简介:黄强 (1976 年—), 硕士研究生, 研究方向为固相组合合成;

* 通讯联系人。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

构见图 1。

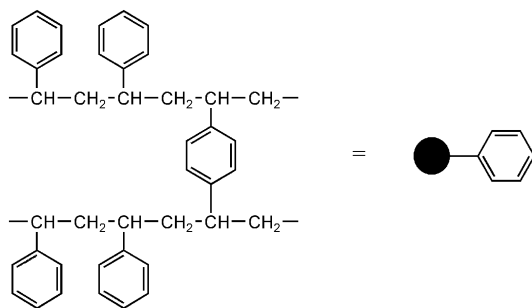


图 1 PS-DVB 的结构

Figure 1 Structure of PS-DBV resin

为了使固液非均相反应能顺利进行,载体树脂需要在溶剂中具有足够的溶胀性,交联度过高的 PS-DVB 树脂显然不能满足固液反应对树脂溶胀性的要求,所以低交联度的聚苯乙烯(1%~2%二乙烯苯交联)最适宜作固相合成载体。此交联度的聚苯乙烯树脂在很多溶剂(如甲苯、二氯甲烷、DMF 等)中的溶胀性都很好。交联聚苯乙烯树脂一般采用悬浮聚合法合成,通过控制工艺参数如反应器的几何尺寸、搅拌方式和搅拌速率等,可以得到合适粒径的珠状颗粒,无需任何后续形状加工,即可直接用作固相合成载体树脂^[5]。

在固相合成过程中,要将目标化合物连接到固相载体上,高聚物骨架上必须带有活性化学官能团。在聚苯乙烯骨架上引入活性化学官能团的方法主要有两种:(1)对高聚物骨架进行化学修饰;(2)用带有化学活性基团的单体与苯乙烯、二乙烯苯共聚。

通常所用的 Merrifield 树脂是将 PS-DVB 树脂中苯环进行氯甲基化后得到的树脂,其制备方法是在四氯化锡或二氯化锌的催化下,用氯甲醚处理 PS-DVB 树脂即可实现氯甲基化^[1](见图 2)。但是,氯甲基化试剂氯甲醚有致癌作用,且氯甲基化过程难于控制氯含量,是一种潜在的麻烦。改进的氯甲基化方法是采用适量的 *p*-氯甲基苯乙烯作为官能团衍生单体,用过氧化苯甲酰作为引发剂,与苯乙烯、二乙烯苯于 80℃ 左右悬浮共聚(见图 3)。该方法克服了用氯甲醚氯甲基化的缺点,同时可以有效地控制苯基氯的含量。其它比较常用的 PS-DVB 类树脂还有氨甲基树脂^[6]和羟甲基树脂^[6]等,两者皆从 Merrifield 树脂衍生得到。

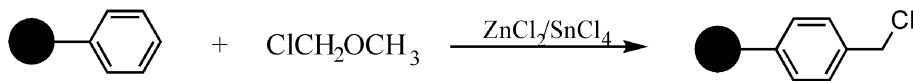


图 2 PS-DVB 氯甲基化的方法

Figure 2 Chloromethylation of PS-DVB resin

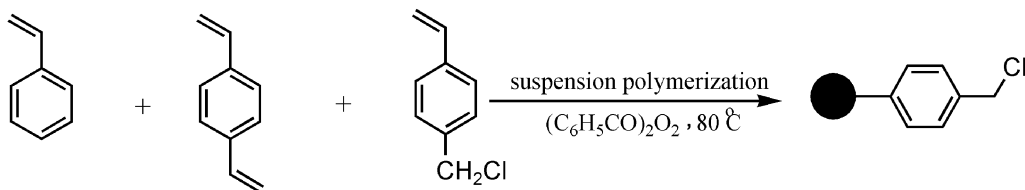


图 3 氯甲基 PS-DVB 树脂的悬浮聚合法

Figure 3 Suspension polymerization for chloromethyl PS-DVB resin

Merrifield 类树脂主要是为多肽的固相合成而设计的,目标多肽需用强酸性条件(如 TFA、TFM-SA 等)处理,使其与树脂分离。然而,强酸性切割条件容易对目标化合物库造成污染甚至破坏,如

用 TFA 切断 Merrifield 树脂酯连接基团时, 目标化合物库就被三氟乙酸酯污染^[8]。另外, 随着固相合成技术从固相多肽合成(SPPS)发展到具有众多化学反应类型固相有机合成(SPOS), 需要采用各种与切割条件正交的脱保护基的方法, 必须要求切割条件是比较温和的、甚至是中性或碱性的, 特别是在非肽化合物的固相合成领域。因此, 各种温和条件下可切割的带有各种连接分子(Linker)的 PS-DVB 树脂已经被设计出来^[9, 10], 以适应非肽类固相有机合成化学的需要, 如 Wang 树脂(见图 4 中 a)的酯键、酰胺键等连接基团用较低浓度的 TFA 溶液(1%~10%)即可实现切割^[11, 12]。近年来开发的 Rink 树脂(见图 4 中 b)对酸更加敏感^[13], 而 Kaiser 脲树脂^[14, 15](见图 4 中 c)则可用胺类化合物作为切割试剂。此外, 还有多种类型的光切割连接基团(Photocleavage linkers)、无痕迹连接基团(Traceless linkers)及安全拉手连接基团(Safety-catch linkers)等^[9, 10]。

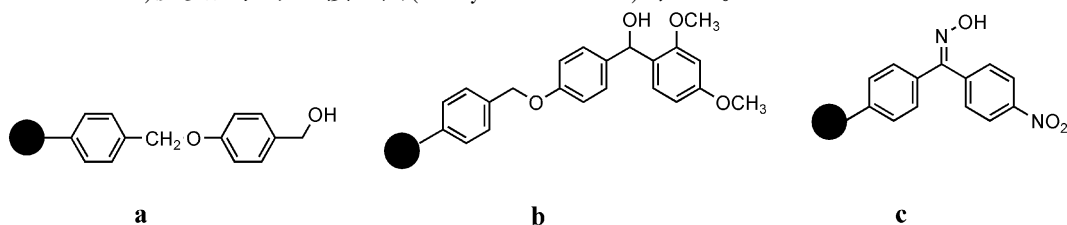


图 4 各种带有连接基团的 PS-DVB 树脂

Figure 4 PS-DVB resins modified by linkers

2 聚酰胺树脂

用于固相合成的聚酰胺树脂一般指聚丙烯酰胺树脂, 通常称为 Sheppard 树脂^[16], 结构见图 5d。其制备方法是以前 N、N'-二甲基丙烯酰胺(见图 5 中 a)为聚合物的骨架单体, 以前 N、N'-双烯丙酰乙二胺(见图 5 中 b)为交联剂, 并通过 N-丙烯酰基甘氨酸甲酯(见图 5 中 c)达到官能团化。把以上单体通过自由基聚合的方法交联共聚, 从而得到 Sheppard 聚酰胺树脂(见图 5)。得到的树脂经乙二醇处理, 其酯基部分发生胺解作用生成氨基作为反应活性点。

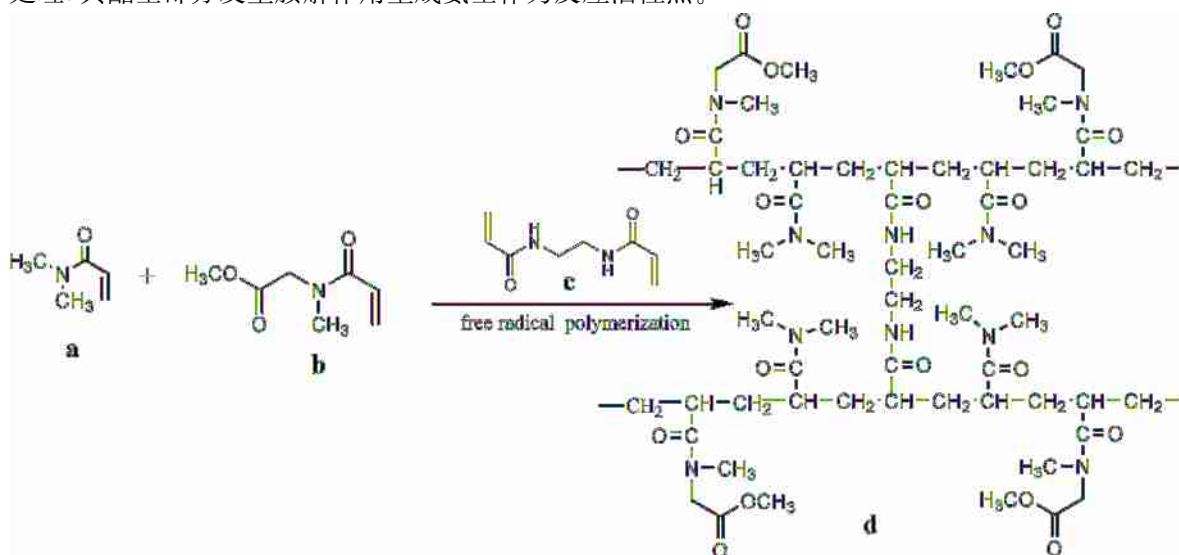


图 5 合成 Sheppard 树脂的方法

Figure 5 Synthesis of Sheppard resin

采用相同的方法,以 *N,N*-二甲基丙烯酰胺(见图 5 中 a)为聚合物骨架分子,经与不同交联剂或官能团衍生单体聚合,可得到许多新型聚酰胺树脂。如 Kanda 等^[17]用 *N,N'*-双烯丙酰基丙二胺(见图 6 中 a)为交联剂,用 *N*-甲基丙烯酰基氯氢合丙二胺(见图 6 中 b)和带有 Msc 保护基的丙烯酰胺酯衍生物(见图 6 中 c)分别作为官能团衍生单体,来制备聚酰胺树脂。以图 6 中化合物 b 作为官能团衍生单体制备的树脂在使用时用碱中和氯化氢即可暴露出反应活性位点,而以图 6 中化合物 c 作为官能团衍生单体制备的树脂也可用碱来脱除 Msc 保护基实现官能团化。

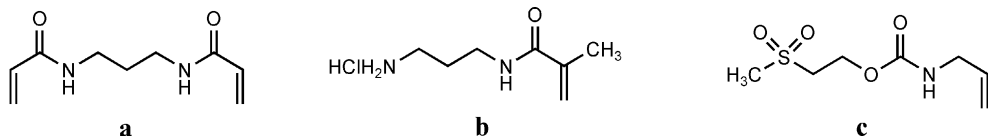


图 6 合成聚酰胺树脂的其它单体

Figure 6 Other monomers for polyamide resins

在固相多肽合成中,尽管 PS-DVB 树脂在溶剂中膨胀起来可以容纳生长中的多肽,但是由于 PS-DVB 树脂的基质是憎水性的,而肽链与肽链之间有形成氢键的潜能。多肽为了满足自身氢键的需要,在憎水性的聚苯乙烯上会发生折叠而不发生溶剂化效应,这样就严重妨碍了生长中的多肽暴露出其末端,影响了肽链的增长,从而降低了多肽合成的速率和收率。而凝胶状聚酰胺树脂具有与多肽链本身更为接近的结构,能够显著提高其在非质子化溶剂(如 DMF、*N*-甲基吡咯烷酮等)中的溶胀性,可以显著改善上述缺点。目前,由聚酰胺树脂制成的珠状载体和无定形载体已经实现商业化生产,分别适用于间歇式反应器和连续式反应器^[18]。

但是,聚酰胺类树脂缺乏结构上的刚性,而且在极性较小的溶剂(如二氯甲烷等)中的溶胀性很小,在极性溶剂中却有一定的溶解性,所以限制了该类树脂的应用。值得一提的是,Calas 等^[19]用更加亲脂性的 *N*-烯丙酰基吡咯烷酮代替 *N,N*-二甲基丙烯酰胺作为骨架单体制备的聚酰胺类树脂在二氯甲烷中的溶胀性得到很好的改善。最近,Fomine^[20]研究小组报道了一种超支化结构的聚酰胺树脂(见图 7)。由于其具有高度支化的梳型分子结构(combopolymer),分子的末端拥有大量的官能团,因此上载量很高。

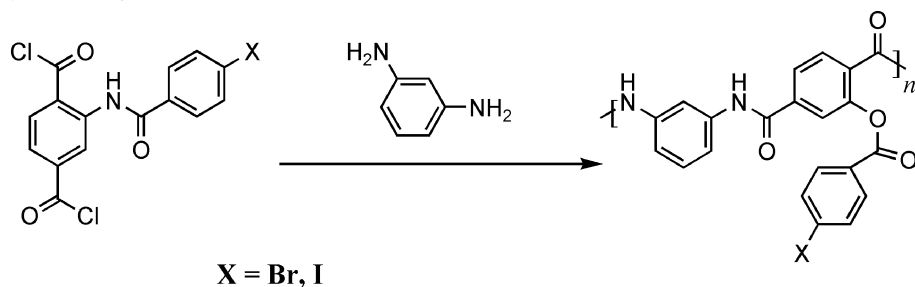


图 7 Fomine 超支化聚酰胺树脂的制备方法

Figure 7 Preparation of Fomine hyperbranched polyamide resins

3 TentaGel 树脂

TentaGel 树脂是德国聚合物公司 Rapp Polymer GmbH 的一类固相合成树脂产品的商标。事实上,TentaGel 树脂是聚乙二醇(PEG)接枝改性的 PS-DVB 树脂,结构见图 8,其 PEG 链末端包含具有反应活性的基团,可以作为固相载体的衍生官能团。

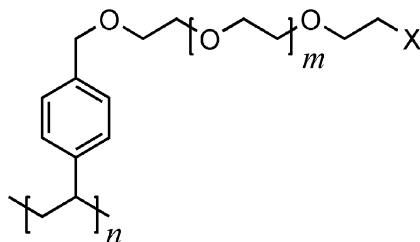


图8 TentaGel 树脂

Figure 8 TentaGel resins

由于 PS-DVB 树脂在极性溶剂中的溶胀性不好,限制了其在固相有机合成中的应用范围。为此,基于 PEG 有较宽的溶解度分布,通过引入 PEG 链接枝改性后得到的 TentaGel 树脂在大多数溶剂(如二氯甲烷、三氯甲烷、甲苯、乙腈、DMF、甲醇、水等)中的溶胀性都很好。在 PS-DVB 树脂上接枝 PEG 链可以起到以下三方面的作用:(1)改善 PS-DVB 树脂在极性溶剂中的溶胀性;(2)作为隔离单元(Spacer),使一系列的固相合成反应远离聚苯乙烯骨架,减小固相载体对化学反应的影响;(3)改变聚苯乙烯骨架复杂的电子效应,从而改变切割步骤的反应条件。TentaGel 树脂提供的化学合成环境与通常有机合成中使用的醚类、四氢呋喃等溶剂非常相似,而其亲水特性则有利于在水溶液环境中释放产物或直接在固相载体上进行筛选,并且对直接连在树脂珠上的化合物进行 NMR 分析时,干扰很少,因而可以广泛应用于多种化合物库的合成^[21]。Quarrell 等^[22]用 TentaGel 树脂合成了胰蛋白酶;Gennari 等^[23]用 TentaGel-OH 树脂和 TentaGel-NH₂ 树脂分别合成了手性的插烯磺酰胺肽类化合物库(Vinylogous sulfonamide peptides)。

虽然 TentaGel 树脂作为固相载体具有诸多优点,但研究发现产物很容易受到 PEG 碎片的污染。为此,人们寻求结构更具稳定刚性的接枝 PEG 链的聚苯乙烯树脂^[24],ArgoGel 树脂(见图 9a)和 NovaGel 树脂(见图 9b)就是这样的例子。它们的结构与 TentaGel 树脂略看不同,ArgoGel 树脂的 PEG 链通过稳定的叔碳原子与聚苯乙烯链连接,而 NovaGel 树脂 PEG 接枝率较低。

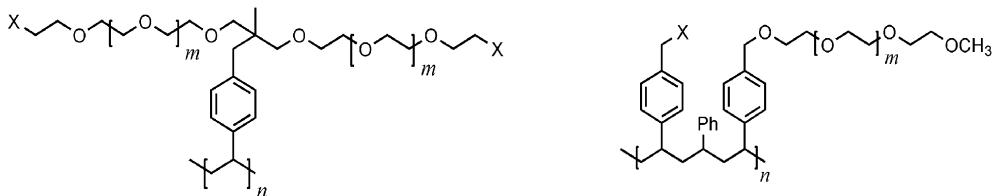


图9 ArgoGel 树脂和 NovaGel 树脂

Figure 9 ArgoGel resins and NovaGel resins

4 新型固相载体

以上几类固相高聚物载体都是从固相合成多肽、寡聚糖、寡聚核苷酸等天然聚合物的基础发展起来的,已不能完全满足当前分子多样性化合物库合成的需要。随着组合化学及固相化学的深入发展,开发一些具有特定性质、适用于不同反应条件和不同反应的聚合物载体具有重要的意义。最近,Kurth^[25]、Sutherland 等^[26]分别用不同的 PEG 衍生物作为交联剂代替 DVB 与苯乙烯共聚,制备了一类新型树脂,它们具有与 TentaGel 类树脂一样优越的溶胀性,且克服了 TentaGel 树脂上载率低和容易造成化合物库污染的缺点,并已成功用于固相肽合成和小分子化合物的合成。Kurth 树脂和 Sutherland 树脂结构很类似,两者不同的是, Sutherland 交联剂(见图 10 中 b)以反应活性更低的酚醚

结构代替 Kurth 交联剂(见图 10 中 a)中反应活性较高的苄基醚结构,因而 Sutherland 树脂的应用范围更加广泛。

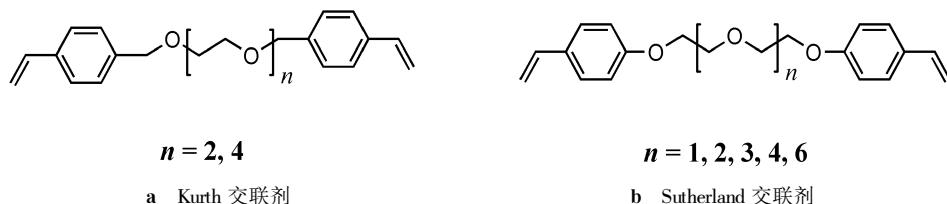


图 10 PEG 衍生物交联剂

Figure 10 PEG derivative crosslinkers

虽然用 PEG 及其衍生物对树脂进行改性赋予树脂很多优越的特性,但是 PEG 是一种非常亲水性的材料,其形成螺旋结构的强烈趋势对金属阳离子具有束缚作用。另外,四氢呋喃是有机金属试剂普遍使用的溶剂,而 PEG 仅微溶于冷的四氢呋喃。PEG 的这些特性限制了 PEG 改性的树脂在低温有机金属化学和涉及阴离子反应的固相合成领域的应用,这两个领域包含了很多现代有机合成的重要反应。因此,PEG 改性树脂的应用范围有很大的局限性。而且,亲水性环境对有机合成不总是有利的。Janda^[27,28]及其同事以聚四氢呋喃衍生物交联剂(见图 11)代替 PEG 衍生物交联剂对树脂进行改性,制备了另一种新型树脂。这种树脂在大多数有机溶剂中的溶胀性都很好,并且对多种普遍使用的化学试剂(如 *m*-CPBA(间氯过苯甲酸)、Dibal-H(氢化二异丁基铝)、MeI、强酸、强碱等)都是稳定的,特别适用于憎水性阴离子反应。他们引入聚四氢呋喃对树脂进行改性是基于这样的认识:首先,四氢呋喃是有机金属试剂普遍使用的溶剂,对于涉及有机金属试剂的固相有机反应,聚四氢呋喃链的引入使固相载体提供的化学反应环境与液相更加相似,从而提高化学反应效率;其次,Czarnik^[29]曾经提出一个著名的论断“固相合成载体像溶剂”(“solid-phase synthesis supports are like solvents”),如果这种观点是正确的,那么,把聚四氢呋喃链引入到固相载体中起到了沟通液相化学和固相化学的作用。

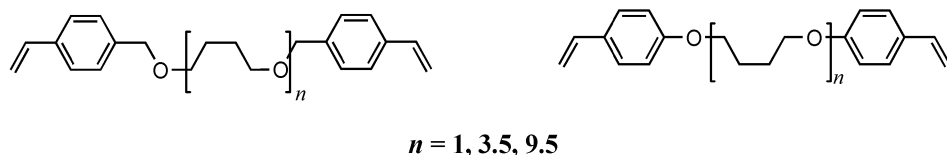


图 11 Janda 交联剂

Figure 11 Janda crosslinkers

Meldal^[30~33]研究小组开发了非芳环体系的 POEPOP (polyoxyethylene-polyoxypropylene) 树脂和 SPOCC (superpermeable organic combinatorial chemistry) 树脂,其合成方法见图 11。这类树脂不论在极性溶剂还是非极性溶剂中都有优越的溶胀性,特别适合于固相酶合成(solid-phase enzymatic synthesis)。Meldal 小组认为,PS 骨架对连在载体上的化合物直接进行“魔角旋转”核磁共振(MAS-NRM)检测时存在干扰,而且芳环体系聚合物容易发生亲电取代副反应,比如说 Friedel-Crafts 酰化反应等。

5 结束语

固相组合合成技术在实际应用中,普遍存在如下问题:采用固液两相反应,反应速度低,只适用于具有高度反应性的合成方法;从化学量理论上来说,反应收率低;由于反应效率低下,须延长反

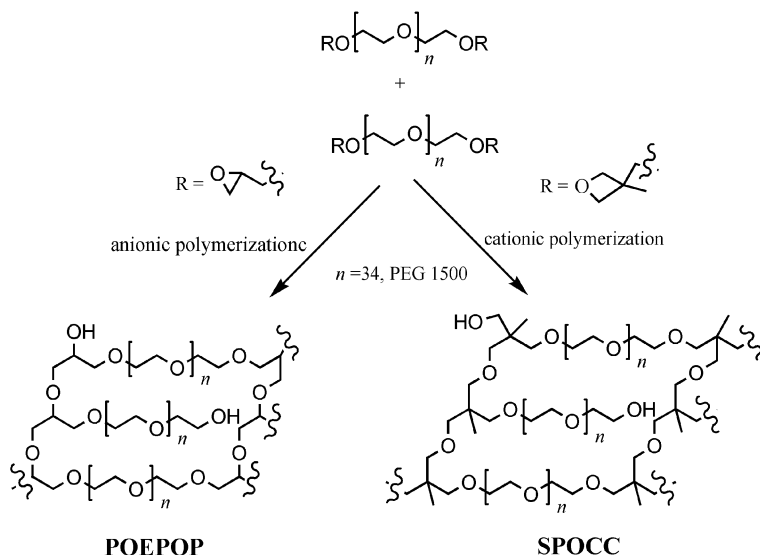


图 12 POEPOP 树脂和 SPOCC 树脂的合成方法

Figure 12 Syntheses of POEPOP resin and SPOCC resin

应时间,但反应时间过长,又会引起产物的分解;尚无检测反应终点的可靠简便方法;使用比理论用量多得多的大量试剂;目前的连接基团对各种亲核性试剂,路易斯酸,还原剂等反应试剂稳定性差。

造成这样一些问题的根本原因是固液非均相反应以及固相合成方法自动引入了两个附加的步骤,底物的上载与目标化合物的卸脱。长期以来,用交联聚苯乙烯作为载体材料一直是固相合成化学的首选,但聚苯乙烯树脂在质子性极性溶剂中的溶胀性很差,导致试剂很难接近反应活性位点。为了解决这一根本性问题,很多设计精巧的连接分子被接到固相载体上,以适应各种类型的化学反应。虽然这样的办法可以改变树脂反应活性点的微环境,但对树脂本身具有的性质却没有根本性的改变,固相载体对化学反应的不利影响依然存在。随着组合化学及固相合成技术广泛深入的发展,化学家们越来越多关注此方面的问题。目前,对新型高反应性能的固相载体的研究主要集中在解决组合化学应用中普遍存在的反应速度低、反应收率低、反应时间长等反应效率低下的问题,开发出适用范围广、反应检测控制容易的高性能载体材料,这将对新药创新研究、医药化工、功能材料等的开发起到积极和重要的推动作用。

参考文献:

- [1] Merrifield R B. J Am Chem Soc, 1963, 85, 2179~2154.
- [2] Nielsen J. Current Opinion in Chemical Biology, 2002, 6, 297~305.
- [3] Meldal M, Pirrung M. Current Opinion in Chemical Biology, 2002, 6, 287-288.
- [4] Dolle R E, Nelson K H Jr. J Comb Chem, 1999, 1, 235~282.
- [5] Alesso S M, Yu Z R, Pears D, et al. J Comb Chem, 2001, 3, 631~633.
- [6] Mitchell A R, Kent S B, Erickson B W, et al. Tetrahedron Lett, 1976, 17, 2795~3798.
- [7] Wang S S. J Org Chem, 1975, 10, 1235.
- [8] Deegan T L, Gooding O W, Baudart S, et al. Tetrahedron Lett, 1997, 38, 4973~4976.
- [9] Blackburn C. Biopoly, 1998, 47, 311~351.
- [10] Guillier F, Orian D, Bradley M. Chem Rev, 2000, 100, 2091~2157.
- [11] Hanessian S, Xie F. Tetrahedron Lett, 1998, 39, 733~736.
- [12] Hanessian S, Ma J G, Wang W G. Tetrahedron Lett, 1999, 40, 4631~4634.
- [13] Tommasi R A, Mantemmet P G, Shapori M J, et al. Tetrahedron Lett, 1998, 39, 5477~5480.

- [14] Scialdone M A. *Tetrahedron Lett.*, 1996, 37, 8141~8144.
- [15] Scialdone M A, Shuey S W, Soper P, et al. *J Org Chem.*, 1998, 63, 4802~4807.
- [16] Arshady R, Atherton E, Clicer D L J, et al. *J Am Chem Soc, Perkin Trans.*, 1981, 1, 529~537.
- [17] Kanda P, Kennedy R C, Sprrow J T. *Int J Peptide Protein Res.*, 1991, 38, 385~391.
- [18] Sprrow J T, Knieb-Cordonier N G, Obeyesekere N U, et al. *Peptide Res.*, 1996, 9, 297~304.
- [19] Calas B, Mery J, Parello J, et al. *Tetrahedron*, 1985, 41, 5331~5339.
- [20] Guadarrama P, Fomina L, Fomine S. *Polym Int.*, 2001, 50, 76~83.
- [21] Gremilch H U. *Biotechnol Bioeng.*, 1998/1999, 61, 179~187.
- [22] Quallrell R, Claridge T D W, Weaver G W, et al. *Mol Diversity*, 1996, 1, 223~232.
- [23] Gennari C, Longaria C, Ressler S, et al. *Eur. J Org Chem.*, 1998, 2437~2449.
- [24] Porco J A, Deegan T, Devonport W, et al. *Mol Diversity*, 1997, 2, 197.
- [25] Wilson M E, Peach K, Zhou W J, et al. *J Org Chem.*, 1998, 63, 5094~5099.
- [26] McCairn M C, Tonge S R, Sutherland A J. *J Org Chem.*, 2002, 67, 4847~4855.
- [27] Toy P H, Janda K D. *Tetrahedron Lett.*, 1999, 40, 6329~6332.
- [28] Toy P H, Reger T S, Garibay P, et al. *J Comb Chem.*, 2001, 3, 117~124.
- [29] Czarnik A W. *Biotechnol Bioeng.*, 1998, 61, 77~79.
- [30] Rademann J, Gräli M, Meldal M, et al. *J Am Chem Soc.*, 1999, 121, 5459~5466.
- [31] Gräli M, Rademann J, Groth T, et al. *J Comb Chem.*, 2001, 3, 28~33.
- [32] Miranda L P, Lubell W D, Halkes K M, et al. *J Comb Chem.*, 2002, 4, 523~529.
- [33] Rademann J, Meldal M, Bock K. *Chem Eur J.*, 1999, 5, 1218~1225.

Progress of Polymer Supports for Solid-phase Synthesis and Combinatorial Chemistry

HUANG Qiang, LONG Quan, ZHENG Bao-zhong

(*Department of Materials Science and Engineering, Yunnan University, Kunming 650091, China*)

Abstract: The preparations, characteristics, applications and developments of polymer supports for solid-phase synthesis and combinatorial chemistry are reviewed. PS-DVB resins, polyacrylamide resins and TentaGel resins are emphasized and some novel PS resins including resins modified by PEG derivative cross-linkers and by PTHF derivative cross-linkers are recommended, also nonaromatic POEPOP and SPOCC resins.

Key words: Combinatorial chemistry; Solid-phase synthesis; Polymer supports; PS-DVB resins

(上接 72 页)

Research Progress in Phospholipid Polymers

ZHANG Xiu-cai¹ ZHONG Wei^{2*} MENG Sheng² CHENG Wei-zhuang¹ DU Qiang-guo²

(1. *Institute of materials, Tongji University, Shanghai 200092, China*;

2. *Department of Macromolecular Science, The Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Fudan University, Shanghai 200433, China*)

Abstract: Phospholipid Polymers are a family of biomimetic materials and proved to be biocompatible, specifically blood-compatible. Based on their chemical compositions and microstructures, this article provides an overview of development and biomedical applications of phospholipid polymers.

Key words: Phospholipid polymers; Biocompatibility; Biomimetic materials