

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2011年2月3日 (03.02.2011)

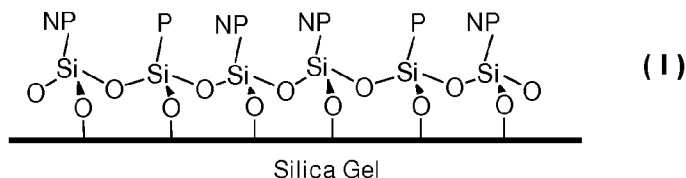
PCT

(10) 国际公布号
WO 2011/012019 A1

- (51) 国际专利分类号:
B01J 20/286 (2006.01) *B01D 15/08* (2006.01)
B01J 20/30 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2010/073468
- (22) 国际申请日: 2010年6月2日 (02.06.2010)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
200910012845.1 2009年7月31日 (31.07.2009) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 中国科学院大连化学物理研究所 (DALIAN INSTITUTE OF CHEMICAL PHYSICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市中山路457号, Liaoning 116023 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 郭志谋 (GUO, Zhimou) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市中山路457号, Liaoning 116023 (CN)。 梁图 (LIANG, Tu) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市中山路457号, Liaoning 116023 (CN)。 金高娃 (JIN, Gaowa) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市中山路457号, Liaoning 116023 (CN)。 梁鑫淼 (LIANG, Xinmiao) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市中山路457号, Liaoning 116023 (CN)。
- (74) 代理人: 沈阳科苑专利商标代理有限公司 (SHENYANG PATENT & TRADEMARK AGENCY ACADEMIA SINICA); 中国辽宁省沈阳市和平区三好街24号, Liaoning 110004 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: SEPARATION MATERIAL BASED ON SILICA GEL HAVING COPOLYMERIZATION REACTION ON SURFACE AND PREPARATION METHOD THEREOF

(54) 发明名称: 基于硅胶表面共聚反应的分离材料及其制备方法



(57) Abstract: A separation material based on silica gel substrate and preparation method thereof are provided. The separation material based on silica gel substrate is obtained by copolymerizing two or more silane reagents on the silica gel surface to form "non-polar/polar copolymerized stationary phase" and has the following formula, wherein NP denotes non-polar groups, which comprise C₁₋₃₀ n-alkane groups, phenyl, and so on; P denotes polar groups, which comprise C₁₋₁₂ n-alkane groups jointing with Cl, Br, CN, amino group, benzenesulfonic group, sulfonic group, carboxyl group, quaternary ammonium group, alcohol group, and so on. The preparation method of the above mentioned separation material comprises the following steps: acidification preprocessing of silica gel, hydrating, copolymerizing a mixture of non-polar silane reagent and polar silane reagent on the hydrated silica gel surface, filtering, washing, drying, and so on. The separation material of the present invention has both non-polar groups and polar groups, which can provide hydrophobic applied force and several kinds of polar applied forces, and thereby improve greatly the selectivity of separation and enrichment. The separation material obtained through the preparation method of the present invention has merits such as uniform and stable bonding groups on the surface, larger bonding amount and so on, and can be applied to liquid chromatogram chromatography and solid phase extraction.

[见续页]

WO 2011/012019 A1

(57) 摘要:

提供一种硅胶基质分离材料及其制备方法。该硅胶基质分离材料通过两种或两种以上硅烷试剂在硅胶表面经过共聚反应，形成“非极性/极性共聚固定相”得到，其具有如下结构式，其中，NP 为非极性基团，包括碳原子数为 1-30 的正链烷基、苯基等；P 为极性基团，包括以碳原子数为 1-12 的正链烷基相连接的氯原子、溴原子、氰基、胺基、苯磺酸基、磺酸基、羧基、季铵基、醇基等。上述分离材料的制备方法，包括硅胶酸化预处理、水合、非极性硅烷试剂与极性硅烷试剂混合物在水合硅胶表面共聚反应、过滤、洗涤和干燥等步骤。本发明的分离材料同时具有非极性基团和极性基团，能同时提供疏水作用力和多种形式的极性作用力，可以大大提高分离和富集选择性。本发明提供的制备方法所得到的分离材料具有表面键合基团均匀稳定，键合量大等优点，可广泛应用于液相色谱和固相萃取。

基于硅胶表面共聚反应的分离材料及其制备方法

技术领域

本发明涉及分离材料，具体的说是一种基于硅胶表面共聚反应的硅胶基质键合
5 “非极性/极性共聚固定相”及其制备方法。

背景技术

反相模式高效液相色谱是当前应用最为广泛的分离分析和纯化分离技术。基于反
相模式的固相萃取技术也是常用的样品前处理和富集技术。硅胶基质烷基（如十八烷
10 基 C18，辛烷 C8 等）键合固定相是反相色谱和固相萃取最常用的分离材料。但是，
烷基固定相只能提供单一的疏水作用力，极性相互作用不足，对极性化合物的保留和
分离选择性较差。烷基固定相疏水性太强，缺乏亲水基团，当流动相或洗脱剂中水含
量较高时会导致分离材料丧失浸润，发生键合相“塌陷”，失去分离能力。因此，在
15 常规反相固定相的基础上引入极性基团，发展能同时提供疏水作用力和极性相互作用
力的键合固定相，补充反相色谱和固相萃取过程中的极性选择性和改善分离材料的浸
润性是色谱分离技术发展的重要方向[Buszewski, B. et al, Anal. Chem. 1997, 69,
3277-3284]。另外，引入极性基团还可以“屏蔽”硅胶表面残余硅醇基活性，改善碱
性化合物的分离效率。

当前，在反相固定相中引入极性基团的制备技术主要有两种，即极性包埋技术
20 （polar-embedded）[Silva, C. R. et al, J. Chromatogr. A, 2001, 913, 65-73]和极性封尾技术
（polar-endcapped）[Layne, J. et al, J. Chromatogr. A, 2002, 957, 149-164]。通过这两种
技术能在非极性键合固定相中引入酰胺、脲基、醇基等极性基团，能有效改善反相固
定相的极性选择性、浸润性和碱性化合物分离效率。但是，这种两种引入极性基团
25 的技术也存在一定的局限性。极性包埋的方法是在每一个非极性的配基和硅胶之间插入
一个极性基团，即极性基团与非极性配基之间的比例基本是 1：1，很难调控极性基
团与非极性配基之间的比例。另外，极性基团与非极性配基的空间位置相对固定，难
以进行调控。某些极性包埋固定相还存在稳定性较低的问题。极性封尾的方法是通过
键合非极性配基后硅胶表面残余的硅醇基与极性硅烷试剂的反应引入极性基团，极性
30 基团的数量和位置分布更加的不确定。极性封尾固定相在屏蔽硅醇基活性方面存在一
定问题，不能显著的降低硅胶表面硅醇基活性。

Wirth 等发展了一种利用硅烷试剂在水合硅胶进行水平聚合反应制备色谱固定相
的方法[Peter Fairbank, R. W. et al, Anal. Chem. 1995, 67, 3879-3885]。该方法被用于制
备丙基/十八烷基混合反相固定相和甲基/十八烷基混合固定相[Peter Fairbank, R. W. et
al, J. Chromatogr. A, 1999, 830, 285-291]。另外，该方法还被用于制备 3-氯丙基硅胶
35 [Hughes, M. A. et al, Ind. Eng. Chem. Res. 2006, 45, 6538-6547;美国专利：专利号为 5,
695, 882]。该方法为进行硅胶表面共聚反应提供了可能。但是，当前尚未出现使用
此方法制备极性反相分离材料的技术和相应的分离材料。

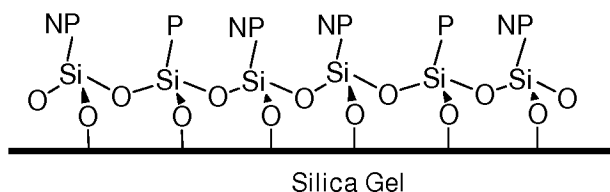
发明内容

40 本发明的目的是提供一种以“非极性/极性共聚固定相”为功能基团的分离材料

及制备该材料的方法。

为了实现上述发明目的，本发明采用如下的技术方案：

本发明的分离材料的结构式如下：



- 5 其中，Silica Gel 为硅胶，NP 为非极性基团，包括碳原子数为 1~30 的正链烷基、苯基等。P 为极性基团，包括以碳原子数为 1~12 的正链烷基相连接的氯原子、溴原子、氰基、胺基、苯磺酸基、磺酸基、羧基、季铵基、醇基等。

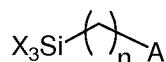
本发明的分离材料的制备方法，包括如下步骤：

- 10 (1) 硅胶加入体积浓度为 1%~38% 的盐酸或硝酸溶液中，加热回流搅拌 1~48 小时，过滤，水洗至中性，于 100~160℃ 下干燥至恒重；

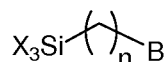
(2) 步骤 (1) 所得干燥硅胶置于相对湿度为 20%~80% 的气氛中 24~72 小时，使硅胶吸水增重 0.5%~10%；

- 15 (3) 硅胶表面共聚：将步骤 (2) 所得水合硅胶置于玻璃或者聚四氟乙烯反应容器中，氮气氛围下加入有机溶剂，搅拌均匀，滴加非极性硅烷试剂和极性硅烷试剂混合物，保持温度为 20~200℃ 条件下搅拌 2~48 小时；

所用有机溶剂为与水不互溶的有机溶剂，包括甲苯、乙苯、二甲苯、正己烷、正庚烷、正戊烷、正辛烷、环己烷等苯系物和烷烃。每克水合硅胶使用 2 mL~100 mL 有机溶剂。非极性硅烷试剂结构式为：



- 20 其中 X 为氯原子，甲氧基或乙氧基；n 为 0~29，A 为苯基或甲基。极性硅烷试剂结构式为：



- 25 其中 X 为氯原子，甲氧基或乙氧基；n 为 1~12，B 为氯原子、溴原子、氰基、胺基、苯磺酸基、磺酸基、羧基、季铵基、二醇基等。非极性硅烷试剂和极性硅烷试剂的摩尔比为 1/100~100/1。极性硅烷试剂和非极性硅烷试剂总的使用量为每克水合硅胶使用 0.5 mmol~5 mmol 硅烷试剂；

(4) 洗涤和干燥：将步骤 (3) 的反应体系冷却至室温，减压过滤并用甲苯、二氯甲烷、甲醇、水、四氢呋喃、甲醇等溶剂洗涤，固体产品在 60~100℃ 条件下干燥 12 小时。

- 30 本发明具有以下有益效果：本发明制备的分离材料同时具有非极性基团和极性基团，能同时提供疏水作用力和多种形式的极性作用力，如氢键作用、偶极-偶极作用、静电吸引或排斥作用等，可以大大提高分离选择性。由于极性基团的引入，本发明制备的分离材料在流动相含有高含量水溶液条件下的浸润性将得到改善，有效避免常规反相分离材料丧失浸润的问题。此外，极性基团还可以很好的屏蔽硅醇基的活性，改

善碱性化合物的峰形和分离效率。与现有极性反相固定相相比，固定相结构中非极性基团和极性基团的种类和比例可以自由调控。本发明提供的制备方法可根据需要，通过对不同类型的非极性基团和极性基团进行组合或者调整极性基团和非极性基团的比例，制备各种类型的固定相，满足不同样品的分离需求。与现有技术相比，本发明提供的制备方法所得到的固定相具有表面键合基团均匀稳定，键合量大等优点，技术适用范围广。

附图说明

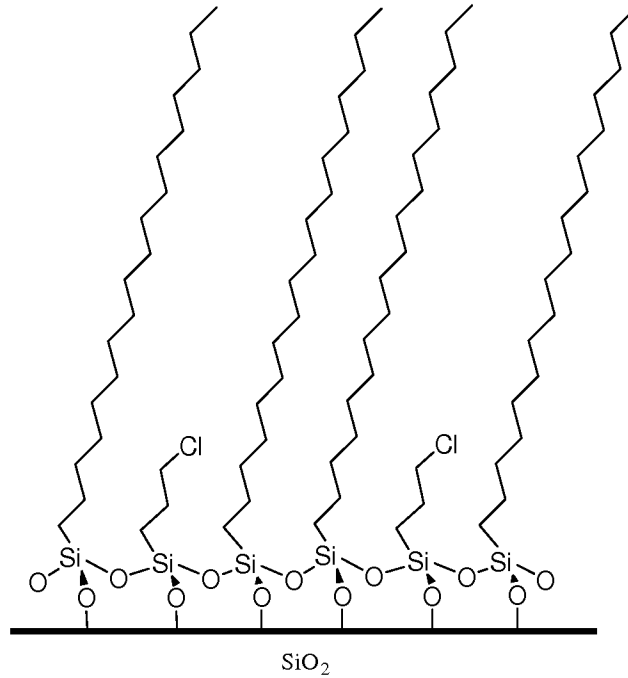
- 图 1 为实施例 17 所得分离材料 C18HCE 浸润性的色谱图；
图 2 为使用实施例 17 所得分离材料 C18HCE 与商品化 C18 柱在分离生物碱中的差异色谱图；
图 3 为使用实施例 13 所得分离材料 C18/SCX-10S 用于三聚氰胺的固相萃取色谱图。

具体实施方式

下面结合实例，对本发明所提供的分离材料及其制备方法和应用做进一步说明。实例仅限于说明本发明，而非对本发明的限定。

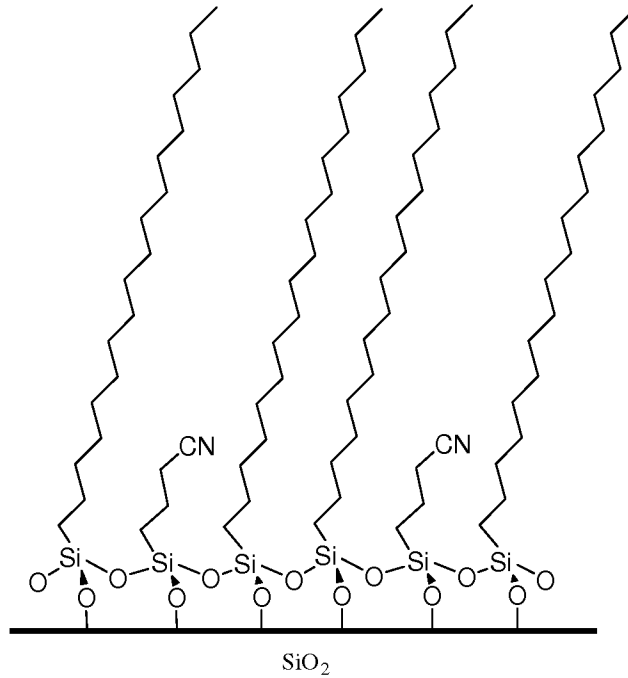
实施例 1

称取 10 g 球形硅胶（粒径为 5 μm ，孔径为 10 nm，比表面积 305 m^2/g ），置于 250 mL 玻璃烧瓶中，加入 150 mL 体积浓度为 10% 的盐酸溶液，加热回流 12 小时，冷却至室温，过滤，水洗至中性，150 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 24 小时。将干燥后的硅胶置于 150 mL 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 50% 的氮气 48 小时，得到水合硅胶 10.5 g。在通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 80 mL 干燥的正己烷，搅拌均匀，然后滴加 18 mmol (7.2 mL) 十八烷基三氯硅烷和 6 mmol (0.9 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物，室温下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。元素分析结果：C: 16.43%，H 3.04%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/HC-3 结构式为：



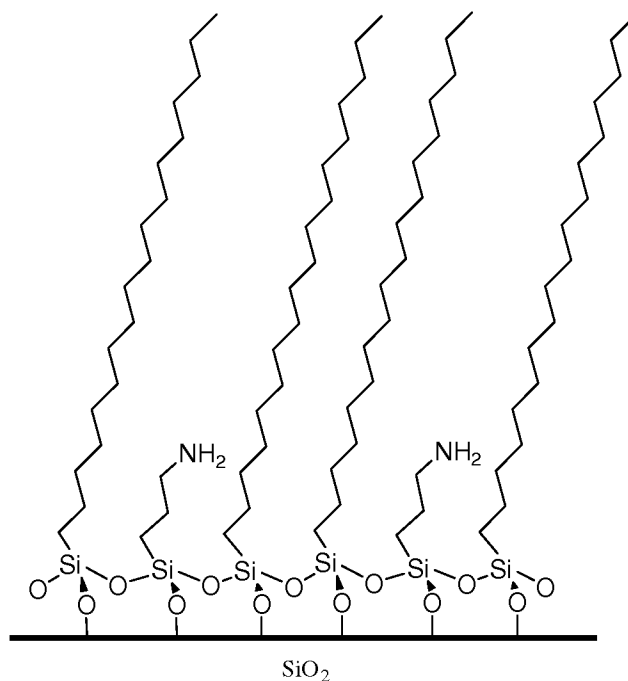
实施例 2

其制备方法为：称取 10 g 球形硅胶（粒径为 3 μm ，孔径为 12 nm，比表面积 290 m^2/g ），置于 250 mL 玻璃烧瓶中，加入 100 mL 体积浓度为 38% 的盐酸溶液，加热回流 2 小时，冷却至室温，过滤，水洗至中性，120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 24 小时。将干燥后的硅胶置于 150 mL 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 60% 的氮气 24 小时，得到水合硅胶 10.3 g。在通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 80 mL 干燥的甲苯，搅拌均匀，然后滴加 16 mmol (6.4 mL) 十八烷基三氯硅烷和 8 mmol (1.9 mL) 3-氰丙基三氯硅烷混合物，80 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。元素分析结果：C 18.65%，N 0.22%，H 3.44%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 和 2300 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/CN-2 结构式为：



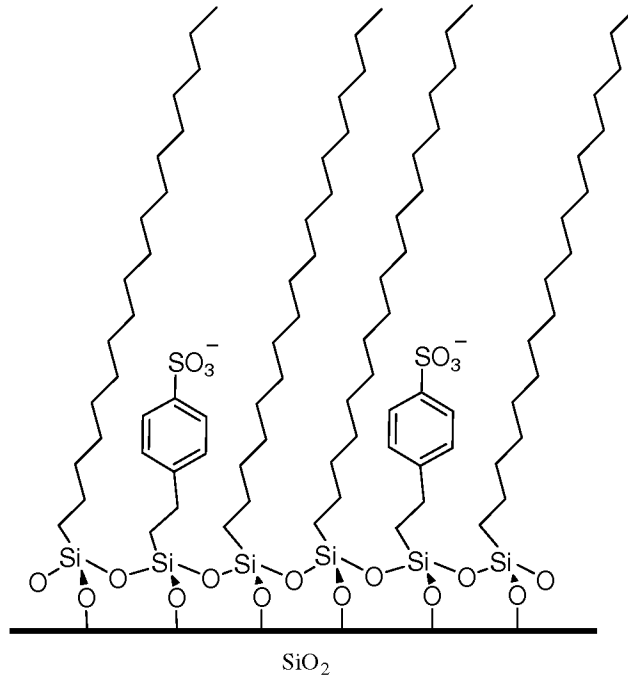
实施例 3

称取 10 g 球形硅胶（粒径为 5 μm ，孔径为 10 nm，比表面积 305 m^2/g ），置于 250 mL 玻璃烧瓶中，加入 150 mL 体积浓度为 10% 的盐酸溶液，加热回流 12 小时，冷却至室温，过滤，水洗至中性，120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 24 小时。将干燥后的硅胶置于 150 mL 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 30% 的氮气 72 小时，得到水合硅胶 10.6 g。在通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 100 mL 干燥的正戊烷，搅拌均匀，然后滴加 16 mmol (6.4 mL) 十八烷基三氯硅烷和 8 mmol (1.4 mL) 3-胺丙基三甲氧基硅烷混合物，室温下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。元素分析结果：C 17.65%，N 1.21%，H 3.64%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/NH2-2 结构式为：



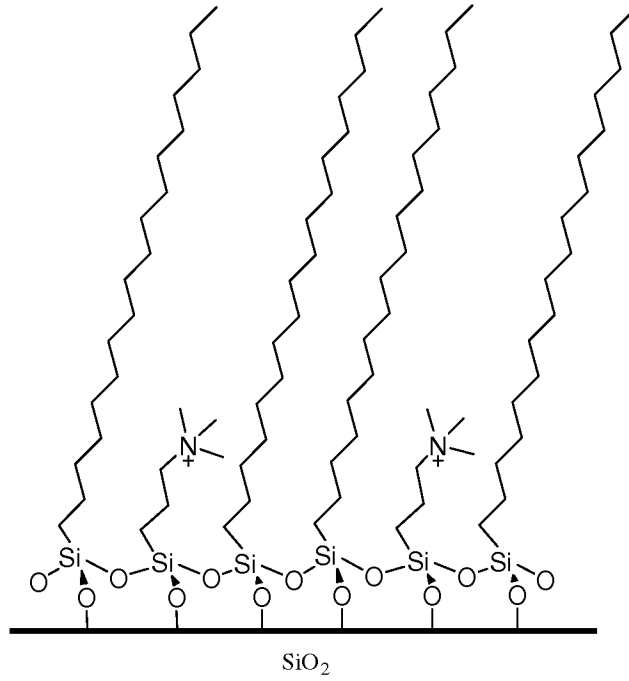
实施例 4

称取 10 g 球形硅胶（粒径为 5 μm ，孔径为 10 nm，比表面积 305 m^2/g ），置于
 5 250 mL 玻璃烧瓶中，加入 150 mL 体积浓度为 10% 的盐酸溶液，加热回流 24 小时，
 冷却至室温，过滤，水洗至中性，150 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 12 小时。将干燥后的硅胶置于 150 mL
 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 50% 的氮气 48 小时，得到水合硅胶 10.5 g。在
 通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 100 mL 干燥的乙苯，搅拌均匀，然后
 滴加 20 mmol (8.0 mL) 十八烷基三氯硅烷和 2 mmol (1.3 mL) 对磺酸基苯乙基三氯硅
 10 烷混合物，60 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，
 水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。
 元素分析结果：C 16.53%，H 2.92%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 和 1625 cm^{-1} 处特
 征吸收峰证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/SCX-10 结构式为：



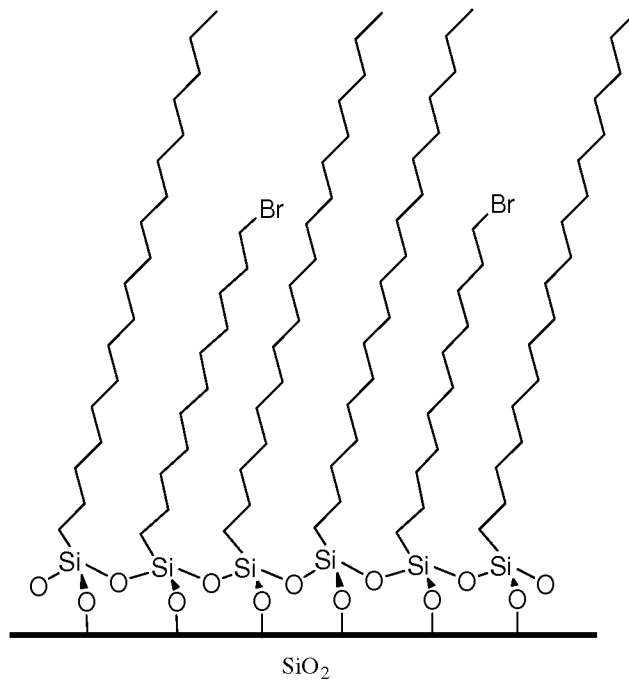
实施例 5

称取 10 g 球形硅胶（粒径为 5 μm ，孔径为 10 nm，比表面积 305 m^2/g ），置于 250 mL 玻璃烧瓶中，加入 120 mL 体积浓度为 5% 的盐酸溶液，加热回流 24 小时，冷却至室温，过滤，水洗至中性，150 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 1 小时。将干燥后的硅胶置于 150 mL 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 30% 的氮气 72 小时，得到水合硅胶 10.6 g。在通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 100 mL 干燥的正己烷，搅拌均匀，然后滴加 20 mmol (8.0 mL) 十八烷基三氯硅烷和 2.5 mmol (0.7 mL) 3-N, N, N-三甲基季铵基丙基三甲氧基硅烷混合物，室温下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。元素分析结果：C 19.24%，N 1.20%，H 2.64%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/SAX-8 结构式为：



实施例 6

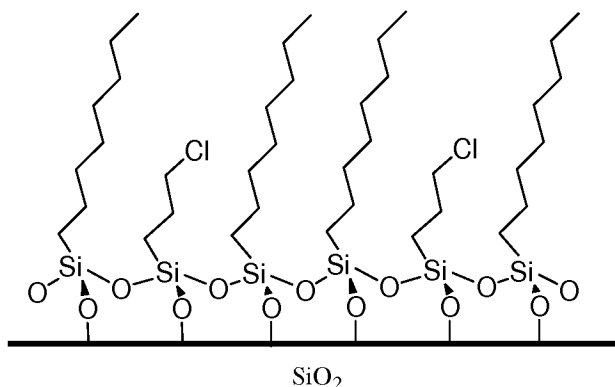
除了所滴加的硅烷试剂为 18 mmol (7.2 mL) 十八烷基三氯硅烷和 6 mmol (1.8 mL) 11-溴十一烷基三氯硅烷混合物外，制备方法中其余部分与实施例 1 相同。元素分析结果：C 15.35%，H 3.78%；红外光谱：2900-2800 cm⁻¹ 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/HB-3 结构式为：



10 实施例 7

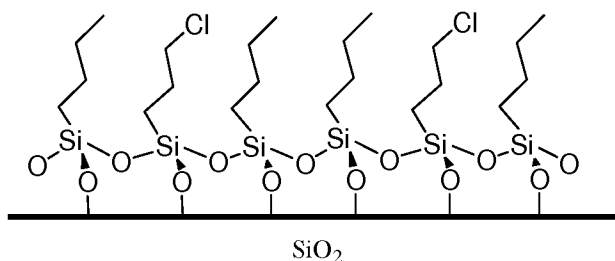
除了所滴加的硅烷试剂为 18 mmol (4.2 mL) 辛基三氯硅烷和 6 mmol (0.9 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物外，制备方法中其余部分与实施例 1 相同。元素分析结果：C

12.35%, H 2.78%; 红外光谱: 2900-2800 cm⁻¹ 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C8/HC-3 结构式为:



5 实施例 8

除了所滴加的硅烷试剂为 18 mmol (3.0 mL) 丁基三氯硅烷和 6 mmol (0.9 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物外, 制备方法中其余部分与实施例 1 相同。元素分析结果: C 7.25%, H 1.77%; 红外光谱: 2900-2800 cm⁻¹ 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C4/HC-3 结构式为:

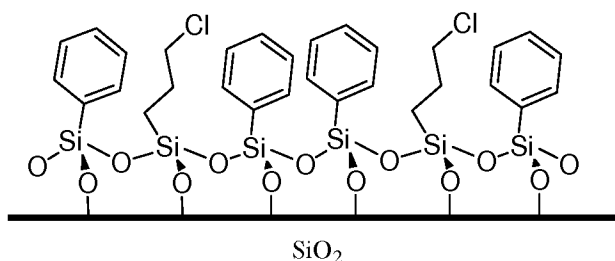


10

实施例 9

除了所滴加的硅烷试剂为 16 mmol (2.6 mL) 苯基三氯硅烷和 8 mmol (1.2 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物外, 制备方法中其余部分与实施例 1 相同。元素分析结果: C 8.23%, H 1.74%; 红外光谱: 2900-2800 cm⁻¹ 和 1624 cm⁻¹ 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 Ph/HC-2 结构式为:

15

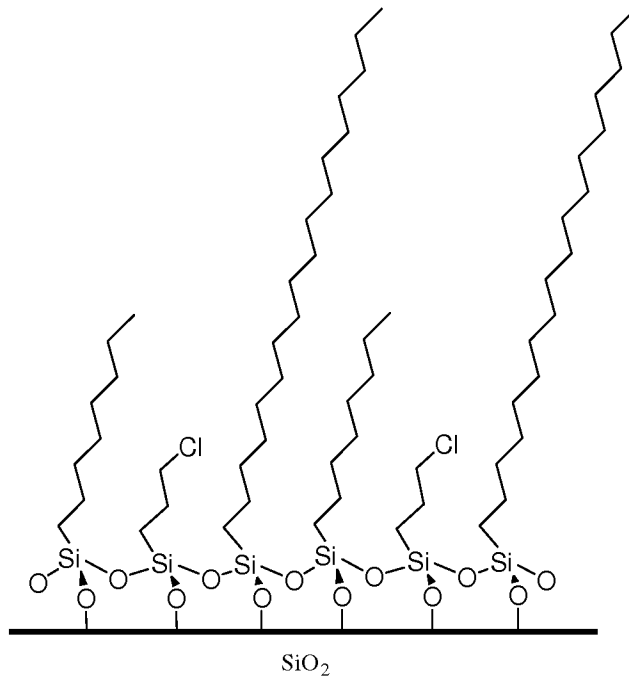


实施例 10

除了所滴加的硅烷试剂为 9 mmol (3.6 mL) 十八烷基三氯硅烷, 9 mmol (2.1 mL) 辛基三氯硅烷和 6 mmol (0.9 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物外, 制备方法中其余部分与实施例 1 相同。元素分析结果: C 18.76%, H 3.47%; 红外光谱: 2900-2800 cm⁻¹

20

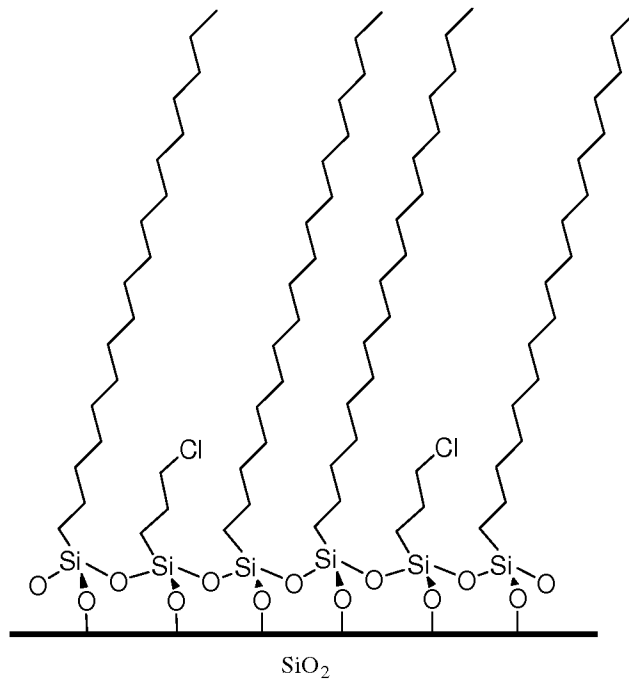
处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/C8/HC-3 结构式为：



5 实施例 11

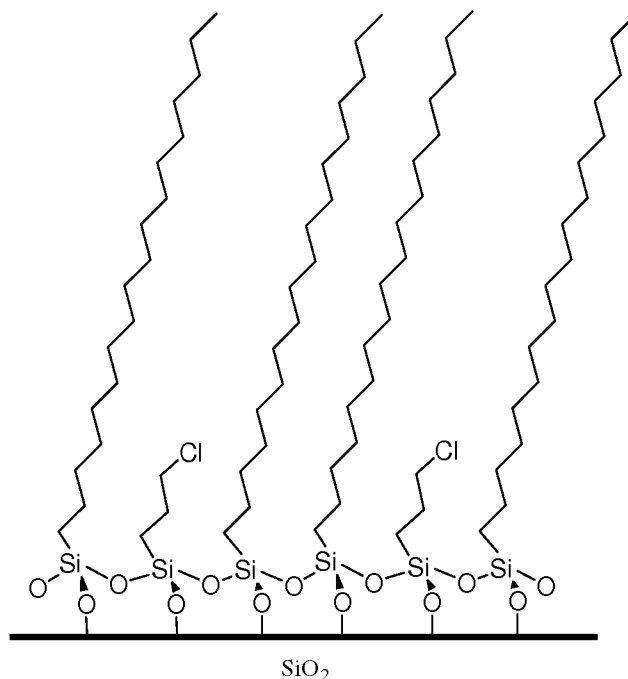
除了所滴加的两硅烷试剂的比例与实施例 1 不同外，制备方法中其余部分与实施例 1 相同。本实施例所滴加的硅烷试剂为 12 mmol (4.8 mL) 十八烷基三氯硅烷和 12 mmol (1.8 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物。元素分析结果：C 16.24%，H 3.03%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/HC-1 结构式为：

10



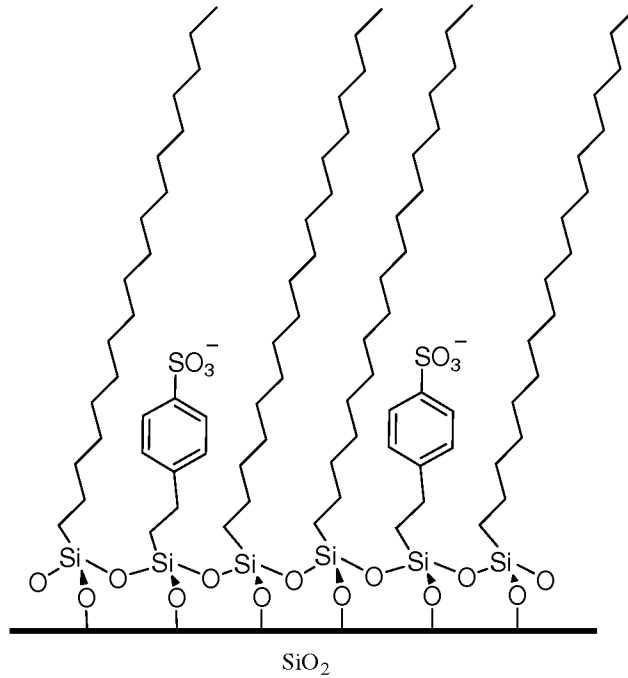
实施例 12

除了所滴加的两硅烷试剂的比例与实施例 1 不同外,制备方法中其余部分与实施例 1 相同。本实施例所滴加的硅烷试剂为 8 mmol (3.2 mL)十八烷基三氯硅烷和 16 mmol (2.4 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物。元素分析结果: C 14.37%, H 2.71%; 红外光谱: 2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/HC-G5 结构式为:



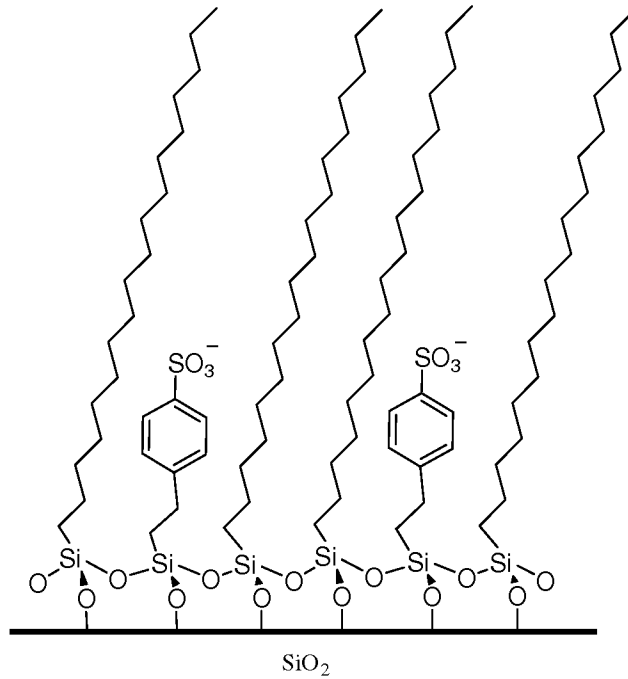
实施例 13

称取 80 g 球形硅胶 (粒径为 40 μm , 孔径为 80 nm, 比表面积 400 m^2/g), 置于 2000 mL 玻璃烧瓶中, 加入 1200 mL 体积浓度为 10% 的盐酸溶液, 加热回流 24 小时, 冷却至室温, 过滤, 水洗至中性, 150 $^\circ\text{C}$ 干燥 12 小时。将干燥后的硅胶置于 1500 mL 三口玻璃瓶中, 连续通入相对湿度为 50% 的氮气 48 小时, 得到水合硅胶 84 g。在通入干燥的氮气的条件下, 往水合硅胶中加入 1000 mL 干燥的甲苯, 搅拌均匀, 然后滴加 200 mmol (80.0 mL) 十八烷基三氯硅烷和 20 mmol (12 mL) 对磺酸基苯乙基三氯硅烷混合物, 60 $^\circ\text{C}$ 室温下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤, 依次用甲苯, 二氯甲烷, 甲醇, 水, 四氢呋喃, 甲醇洗涤, 产物在 80 $^\circ\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。元素分析结果: C 22.43%, H 4.92%; 红外光谱: 2900-2800 cm^{-1} 和 1625 cm^{-1} 处特征吸收峰证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/SCX-10S 结构式为:



实施例 14

除了所滴加的两硅烷试剂的比例与实施例 13 不同外，制备方法中其余部分与实施例 12 相同。本实施例所滴加的硅烷试剂为 200 mmol (80.0 mL) 十八烷基三氯硅烷和 2 mmol (1.2 mL) 对磺酸基苯乙基三氯硅烷混合物。元素分析结果：C 24.41%，H 5.32%；红外光谱：2900-2800 cm⁻¹ 处特征吸收峰证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/SCX-100S 结构式为：

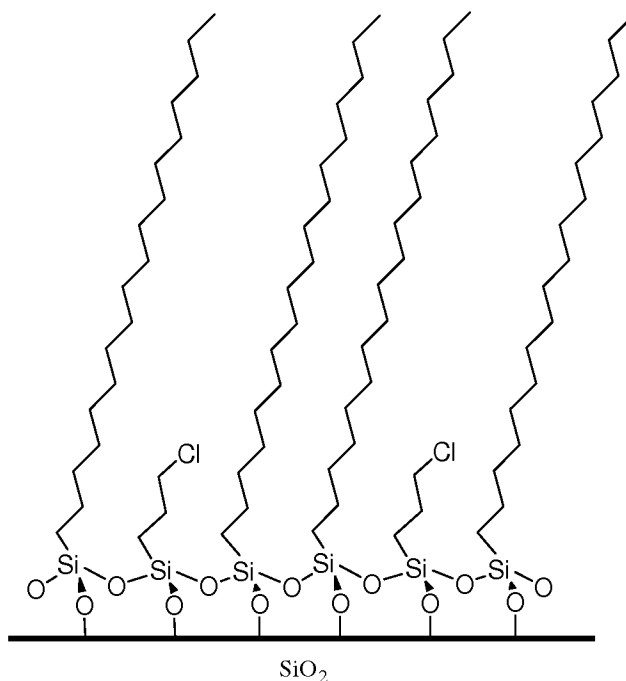


10

实施例 15

称取 40 g 球形硅胶 (粒径为 5 μm, 孔径为 30 nm, 比表面积 80 m²/g), 置于 1000

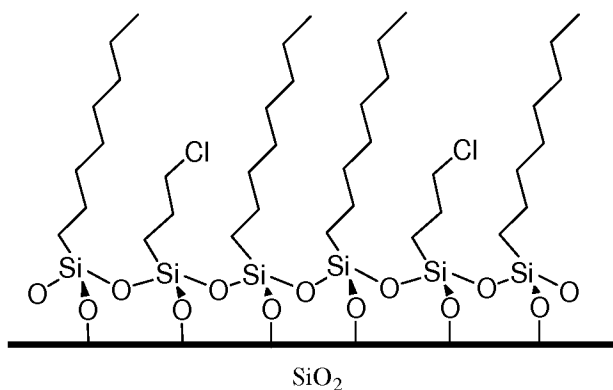
- mL 玻璃烧瓶中，加入 700 mL 体积浓度为 10% 的盐酸溶液，加热回流 12 小时，冷却至室温，过滤，水洗至中性，150℃干燥 24 小时。将干燥后的硅胶置于 500 mL 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 50% 的氮气 48 小时，得到水合硅胶 40.5 g。在通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 300 mL 干燥的正己烷，搅拌均匀，然后滴加 20 mmol (8.0 mL) 十八烷基三氯硅烷和 10 mmol (1.5 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物，室温下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80℃ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示固定相。元素分析结果：C 3.25%，H 0.80%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18/HC-2L 结构式为：



10

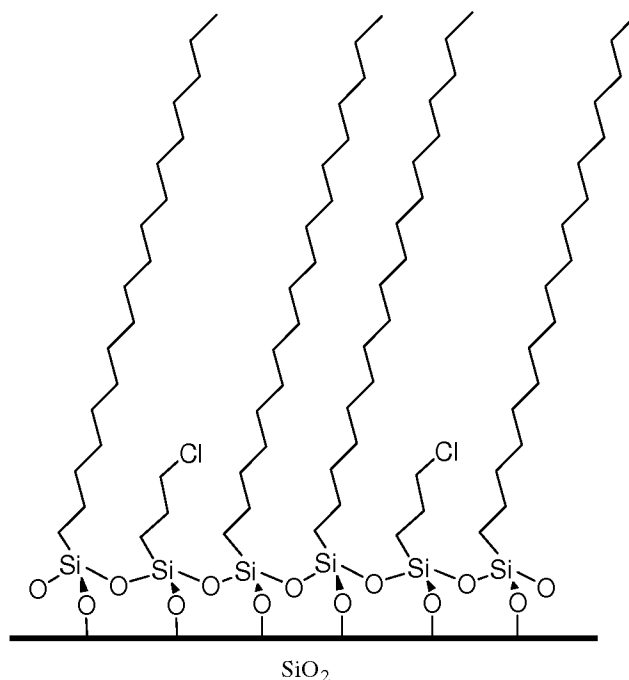
实施例 16

- 除了所滴加的硅烷试剂为 18 mmol (4.2 mL) 辛基三氯硅烷和 6 mmol (0.9 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物外，制备方法中其余部分与实施例 15 相同。元素分析结果：C 3.75%，H 0.92%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C8/HC-3L 结构式为：



实施例 17

称取 10 g 球形硅胶（粒径为 5 μm ，孔径为 10 nm，比表面积 305 m^2/g ），置于 250 mL 玻璃烧瓶中，加入 150 mL 体积浓度为 10% 的盐酸溶液，加热回流 12 小时，冷却至室温，过滤，水洗至中性，150 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 24 小时。将干燥后的硅胶置于 150 mL 三口玻璃瓶中，连续通入相对湿度为 50% 的氮气 48 小时，得到水合硅胶 10.5 g。在通入干燥的氮气的条件下，往水合硅胶中加入 80 mL 干燥的正己烷，搅拌均匀，然后滴加 8 mmol (3.2 mL) 十八烷基三氯硅烷和 16 mmol (2.4 mL) 3-氯丙基三氯硅烷混合物，室温下搅拌反应 24 小时。反应体系过滤，依次用甲苯，二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时。干燥所得固体置于 200 mL 三口烧瓶中，加入 100 mL 甲苯，然后依次加入 3.8 mL 三甲基氯硅烷，7.0 mL 六甲基二硅氮烷和 2.0 mL 吡啶，加热至 110 $^{\circ}\text{C}$ 条件下搅拌反应 24 小时进行封尾处理。反应体系过滤，依次用二氯甲烷，甲醇，水，四氢呋喃，甲醇洗涤，产物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 12 小时即得结构式所示分离材料。元素分析结果：C：11.5%，H 2.16%；红外光谱：2900-2800 cm^{-1} 处特征吸收峰。元素分析和红外光谱结果证实本实施例的非极性/极性共聚固定相 C18HCE 结构式为：



实施例 18

使用实施例 17 所得分离材料 C18HCE，用匀浆法装填 4.6 \times 150 mm 色谱柱，在 100% 水溶液条件下进行“停流速测试”（stop-flow test），验证该分离材料的浸润性。停止流速前后，溶质的保留时间没有发生变化（图 1），表明该分离材料具有很好的浸润性，解决了常规反相分离材料在高水含量流动相中丧失浸润的问题。色谱条件为：

色谱柱：4.6 \times 150 mm C18HCE（填料粒径为 5 μm ）

流动相：10 mM 甲酸铵溶液（pH 3）；

流速：1.0 mL/min；

柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；

检测波长: 260 nm。

“停流速测试”具体方法为: 用 10 mM 甲酸铵溶液平衡色谱柱 10 分钟, 进样运行, 采集数据为 Befroe stop flow 色谱图; 然后停止流速 30 分钟, 重新用 10 mM 甲酸铵溶液平衡色谱柱 10 分钟, 进样运行, 采集数据为 After stop flow 色谱图。

5 实施例 19

使用实施例 17 所得分离材料 C18HCE, 用匀浆法装填 4.6×150 mm 色谱柱, 对比其与商品化 C18 柱在分离生物碱中的差异。结果表明该分离材料在生物碱分离中(图 2c 和 2d)表现出比商品化分离材料(图 2a 和 2b)更好的峰形和载样量。图中标注的质量数为生物碱样品上样量。色谱条件为:

10 色谱柱: 4.6×150 mm C18HCE (填料粒径为 5 μm)和 4.6×150 mm XBridge C18 (填料粒径为 3.5 μm)

流动相条件: 流动相 A, 0.1% formic acid water, 流动相 B, ACN; C18HCE 柱所用梯度条件: 0-30 min, 0%→30% B; XBridge C18 柱所用梯度条件: 0~30 min, 5%→35% B; 30~40 min, 35%→60% B;

15 样品: 延胡索水提生物碱样品, 浓度为 200 mg/mL;

流速: 1.0 mL/min;

柱温: 30 °C;

检测波长: 254 nm。

实施例 20

20 使用实施例 13 所得分离材料 C18/SCX-10S, 装填固相萃取(SPE)小柱, 应用于三聚氰胺的固相萃取, 测试该分离材料对三聚氰胺的吸附性能。结果(图 3, 其中图 3a 为三聚氰胺标准溶液, 图 3b 为固相萃取所得目标馏分)表明该分离材料对三聚氰胺具有很好的吸附能力, 适合作为反相/离子交换混合模式固相萃取填料。固相萃取条件为:

25 SPE 小柱: 容积 1 mL, 装填 60 mg 分离材料;

样品: 三聚氰胺水溶液, 浓度为 0.5 mg/mL;

活化 SPE 柱: 依次用 2 mL 甲醇和 2 mL 水冲洗 SPE 柱, 流速小于 1 mL/min;

上样: 取 1 mL 三聚氰胺水溶液样品加入到 SPE 小柱上;

30 洗脱: 依次用 2 mL 水, 2 mL 甲醇和 4mL 甲醇/氨水(1/1, v/v, 氨水浓度为 20%)冲洗 SPE 柱, 收集 4 mL 甲醇/氨水洗脱部分为目标馏分, 氮气吹扫干燥, 然后用 1 mL 水溶解。

色谱分析条件为:

色谱柱: 4.6×150 mm C18 柱 (填料粒径为 5 μm)

流动相: 10 mM 甲酸铵溶液 (pH 3);

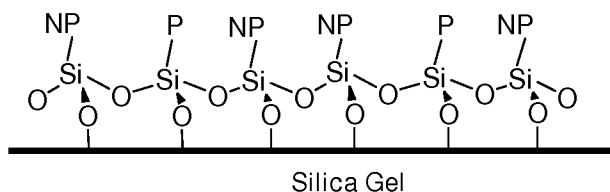
35 流速: 1.0 mL/min;

柱温: 30 °C;

检测波长: 240 nm。

权 利 要 求 书

1. 一种基于硅胶表面共聚反应的分离材料，其特征在于：两种或两种以上硅烷试剂在硅胶表面经过共聚反应，形成“非极性/极性共聚固定相”，其结构式如下：



5

其中，Silica Gel 为硅胶；NP 代表非极性基团，其为碳原子数为 1~30 的正链烷基和苯基中一种或多种；P 代表极性基团，其为末端带有氯原子、溴原子、氰基、胺基、苯磺酸基、磺酸基、羧基、季铵基和醇基官能团的碳原子数为 1~12 的正链烷基中一种或多种。

10 2. 一种权利要求书 1 所述分离材料的制备方法，其特征在于：使用硅胶表面共聚反应制备含两种或两种以上功能基团的分离材料，包括如下步骤：

a. 硅胶预处理：硅胶加入体积浓度为 1%~38% 的盐酸或硝酸溶液中，加热回流搅拌 1~48 小时，过滤，水洗至中性，于 100~160℃ 下干燥至恒重；

15 b. 水合：步骤 a 所得干燥硅胶置于相对湿度为 20%~80% 的气氛中 24~72 小时，使硅胶吸水增重 0.5%~10%，得水合硅胶；

c. 硅胶表面共聚：将步骤 b 所得水合硅胶置于玻璃或者聚四氟乙烯反应容器中，在氮气氛围下加入有机溶剂，搅拌均匀，滴加非极性硅烷试剂和极性硅烷试剂混合物，保持温度为 20~200℃ 条件下搅拌 2~48 小时；

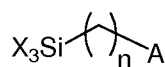
20 d. 洗涤和干燥：将步骤 c 的反应体系冷却至室温，减压过滤、沉淀依次分别采用甲苯、二氯甲烷、甲醇、水、四氢呋喃、甲醇洗涤，固体产品在 60~100℃ 条件下干燥 12 小时，得成品。

3. 按照权利要求 2 所述制备方法，其特征在于：步骤 c 中有机溶剂为与水不互溶的有机溶剂，可为苯系物和烷烃中的一种。

25 4. 按照权利要求 3 所述制备方法，其特征在于：步骤 c 中有机溶剂为甲苯、乙苯、二甲苯、正己烷、正庚烷、正戊烷、正辛烷或环己烷。

5. 按照权利要求 2 所述制备方法，其特征在于：步骤 c 中有机溶剂的使用量为每克水合硅胶使用 2 mL~100 mL 有机溶剂。

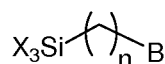
6. 按照权利要求 2 所述制备方法，其特征在于：步骤 c 中非极性硅烷试剂结构式为：



30

其中 X 为氯原子，甲氧基或乙氧基；n 为 0~29，A 为苯基或甲基。

7. 按照权利要求 2 所述制备方法，其特征在于：步骤 c 中极性硅烷试剂结构式为：



其中 X 为氯原子, 甲氧基或乙氧基; n 为 1~12, B 为氯原子、溴原子、氰基、胺基、苯磺酸基、磺酸基、羧基、季铵基或醇基。

8. 按照权利要求 2 所述制备方法, 其特征在于: 步骤 c 中非极性硅烷试剂和极性硅烷试剂的摩尔比例为 1/100~100/1。

5 9. 按照权利要求 2 所述制备方法, 其特征在于: 步骤 c 中非极性硅烷试剂和极性硅烷试剂总的使用量为每克水合硅胶使用 0.5 mmol~5 mmol。

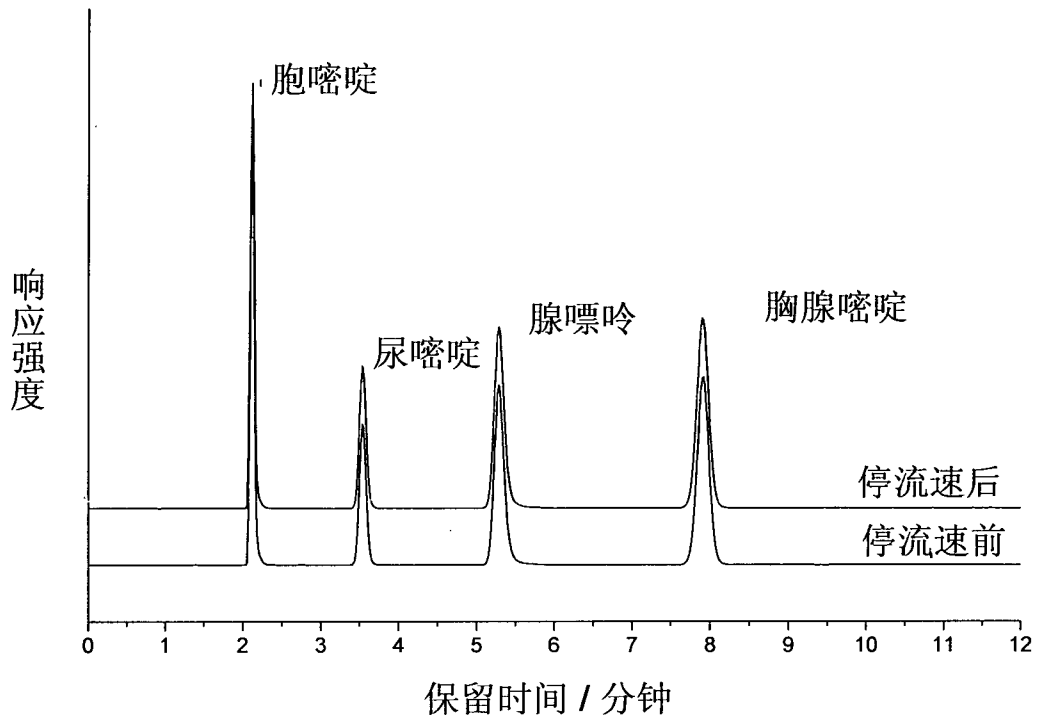


图 1

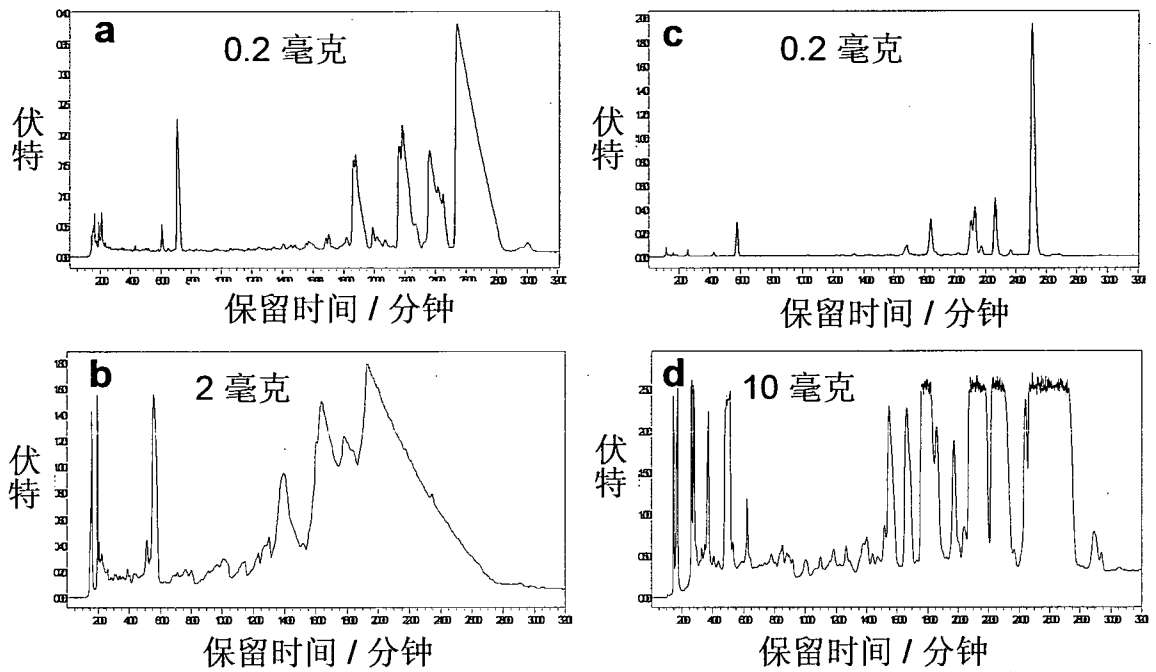


图 2

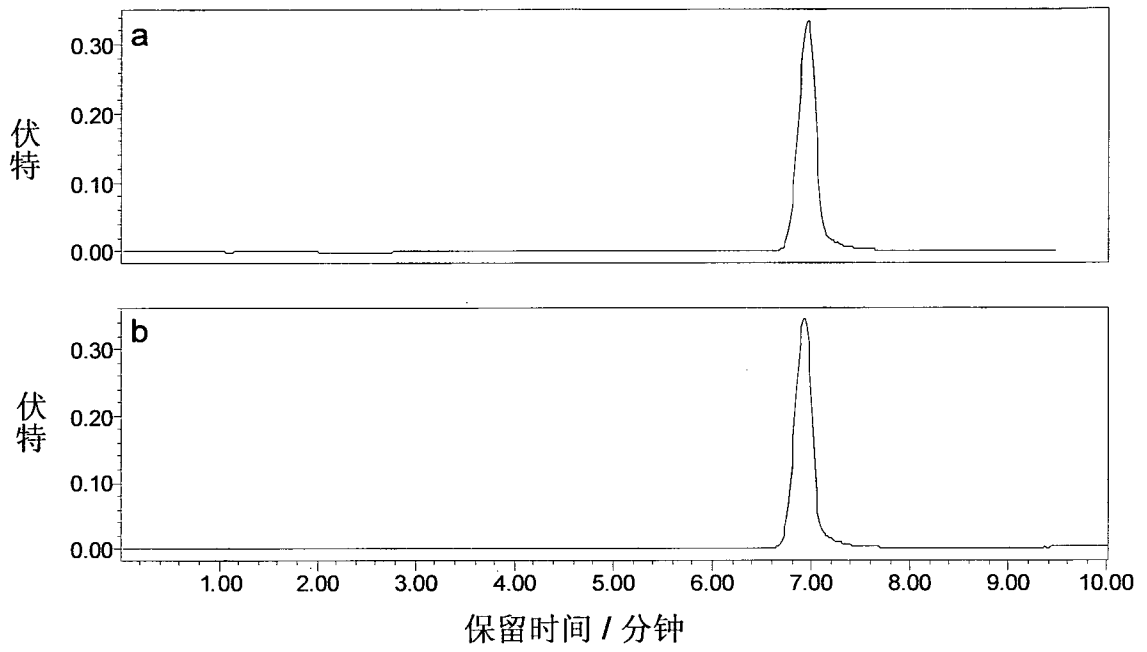


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2010/073468

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: B01J20/-; C01B33/-; B01D15/-;

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI,EPODOC,CA,CNPAT,CNKI, silica, gel, chromatography, chromatogram, nonpolar, polar, hydrophil+, hydrophob+, reverse? phase, stationary phase?, +tri+silane?, mixed mode, copolymer+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN1917953A(VARIAN INC.) 21 Feb. 2007(21.02.2007) pages 17-23, page 15,last paragraph of the description, figs.1-2	1
Y	pages 17-23, page 15,last paragraph of the description, figs.1-2	2-9
Y	CN101041438A(ZHENGZHOU UNIV.) 26 Sep. 2007(26.09.2007) examples 1-2, claims 1-5	2-9
A	US2006000773A1(GLENNON Jeremy, et al.) 05 Jan. 2006 (05.01.2006) the whole document	1-9
A	CN1490067A(WUHAN UNIV.) 21 April 2004(21.04.2004) the whole document	1-9

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&”document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search
13 Aug. 2010(13.08.2010)

Date of mailing of the international search report
16 Sep. 2010 (16.09.2010)

Name and mailing address of the ISA/CN
The State Intellectual Property Office, the P.R.China
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China
100088
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer
YE, Nan
Telephone No. (86-10)82245524

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2010/073468

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO2008147717A1 (DIONEX CORP.) 04 Dec. 2008(04.12.2008) The whole document	1-9
A	US2008164211A1 (MERCK PATENT GMBH) 10 Jul. 2008(10.07.2008) The whole document	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2010/073468

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1917953A	21.02.2007	US2005178730A1	18.08.2005
		WO2005079975A1	01.09.2005
		EP1711258A1	18.10.2006
		US7125488B2	24.10.2006
		AU2005215377A1	01.09.2005
		KR20060129382A	15.12.2006
		JP2007522476T	09.08.2007
		TW200539937A	16.12.2005
		AU2005215377B2	12.11.2009
CN101041438A	26.09.2007	None	
US2006000773A1	05.01.2006	WO2004079362A1	16.09.2004
		EP1601961A1	07.12.2005
		JP2006522328T	28.09.2006
CN1490067A	21.04.2004	CN1205476C	08.06.2005
WO2008147717A1	04.12.2008	US2008293959A1	27.11.2008
		US7557232B2	07.07.2009
		EP2150339A1	10.02.2010
US2008164211A1	10.07.2008	WO2006058623A1	08.06.2006
		EP1693108A1	23.08.2006
		EP1817109A1	15.08.2007
		JP2008521600T	26.06.2008
		US7648636B2	19.01.2010

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/073468

Continuation of: **A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

B01J20/286(2006.01)i

B01J20/30(2006.01)i

B01D15/08(2006.01)i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2010/073468

A. 主题的分类		
见附加页		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC: B01J20/-; C01B33/-; B01D15/-;		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
WPI, EPODOC, CA, CNPAT, CNKI, 硅胶, 色谱, 分离, 极性, 亲水, 疏水, 反相, 固定相, 硅胶, 混合模式, 共聚, silica, gel, chromatography, chromatogram, nonpolar, polar, hydrophil+, hydrophob+, reverse? phase, stationary phase?, +tri+silane?, mixed mode, copolymer+		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN1917953A(凡利安股份有限公司) 21.2 月 2007(21.02.2007) 说明书第 17-23 页, 第 15 页倒数第 1 段, 附图 1-2	1
Y	说明书第 17-23 页, 第 15 页倒数第 1 段, 附图 1-2	2-9
Y	CN101041438A(郑州大学) 26.9 月 2007(26.09.2007) 实施例 1-2, 权利要求 1-5	2-9
A	US2006000773A1(GLENNON Jeremy, et al) 05.1 月 2006 (05.01.2006) 全文	1-9
A	CN1490067A(武汉大学) 21.4 月 2004(21.04.2004) 全文	1-9
A	WO2008147717A1 (DIONEX CORP.) 04.12 月 2008(04.12.2008) 全文	1-9
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在 C 栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件
国际检索实际完成的日期 13.8 月 2010(13.08.2010)		国际检索报告邮寄日期 16.9 月 2010 (16.09.2010)
ISA/CN 的名称和邮寄地址: 中华人民共和国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号: (86-10)62019451		受权官员 叶楠 电话号码: (86-10) 82245524

C(续). 相关文件		
类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	US2008164211A1 (MERCK PATENT GMBH) 10.7 月 2008(10.07.2008) 全文	1-9

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2010/073468

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1917953A	21.02.2007	US2005178730A1	18.08.2005
		WO2005079975A1	01.09.2005
		EP1711258A1	18.10.2006
		US7125488B2	24.10.2006
		AU2005215377A1	01.09.2005
		KR20060129382A	15.12.2006
		JP2007522476T	09.08.2007
		TW200539937A	16.12.2005
		AU2005215377B2	12.11.2009
CN101041438A	26.09.2007	无	
US2006000773A1	05.01.2006	WO2004079362A1	16.09.2004
		EP1601961A1	07.12.2005
		JP2006522328T	28.09.2006
CN1490067A	21.04.2004	CN1205476C	08.06.2005
WO2008147717A1	04.12.2008	US2008293959A1	27.11.2008
		US7557232B2	07.07.2009
		EP2150339A1	10.02.2010
US2008164211A1	10.07.2008	WO2006058623A1	08.06.2006
		EP1693108A1	23.08.2006
		EP1817109A1	15.08.2007
		JP2008521600T	26.06.2008
		US7648636B2	19.01.2010

续 A. 主题的分类

B01J20/286(2006.01)i

B01J20/30(2006.01)i

B01D15/08(2006.01)i