

高效硅胶化学键合固定相的研究进展

佟 巍^{1,2}, 张养军¹, 秦伟捷¹, 钱小红^{1*}

(1. 蛋白质组学国家重点实验室, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京蛋白质组研究中心, 北京 102206; 2. 中国人民武装警察部队医学院药理学系, 天津 300162)

摘要 :对高效液相色谱用硅胶作为基质的化学键合固定相的研究进展进行了全面的评述。介绍了硅胶基质填料的物理化学性质及前处理过程,详细阐述了化学键合固定相的键合反应机制和种类,概括了化学键合固定相在高效液相色谱中的应用,并对我国的硅胶基质填料研究和应用前景进行了展望。

关键词 :高效液相色谱,硅胶基质填料,化学键合固定相,进展

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2010)10-0915-08

Recent advances of high performance chemically bonded silica gel stationary phases

TONG Wei^{1,2}, ZHANG Yangjun¹, QIN Weijie¹, QIAN Xiaohong^{1*}

(1. State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing Proteome Research Center, Beijing 102206, China; 2. Department of Pharmacy, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

Abstract :The advances of the development and the application of silica packing medium in high performance liquid chromatography (HPLC) are reviewed. The physicochemical properties on surface and the methods of pre-processing of this medium are introduced. The bonding modes and the classes of chemically bonded stationary phase are described. The applications of silica packing medium in HPLC and its developing trends are also outlined.

Key words :high performance liquid chromatography (HPLC); silica packing medium ; chemically bonded stationary phase ; advances

高效液相色谱法(HPLC)是目前发展最快、应用最为广泛的一种分析分离技术,正越来越多地应用于纯度检验和制备分离,已成为生物和化学实验室不可缺少的高效、快速、灵敏的分析分离手段。色谱分离的核心是色谱柱,而色谱柱的填料又是最为关键的部分。色谱填料主要有两类:一类是有机聚合物微粒,另一类是键合硅胶,最近还新出现了有机-无机复合基质填料^[1]。这几类填料各有优点及其应用范围:有机聚合物微粒虽然不受使用的 pH 范围限制,但是刚性差,难以进行梯度淋洗;硅胶微粒作为基质具有很高的机械强度、良好的物理化学性质,不受各种有机溶剂的影响,稳定性好,因此常常被采用;但是由于硅胶表面的硅羟基具有酸性,可

与碱性溶质牢固地键合,使碱性样品的保留时间延长,峰形变宽,拖尾,适用的 pH 值范围较窄^[2],使硅胶并不总是理想的基质。目前人们所采用的 HPLC 固定相的绝大部分仍然是以球形硅胶微粒作为基质进行化学修饰,以达到不同的分离目标。

化学键合固定相色谱(chemically bonded phase chromatography, CBPC)^[3]的出现是高效液相色谱发展中的重大技术变革。它是通过化学反应把各种不同的有机基团键合到硅胶(载体)表面的游离羟基上对硅胶进行改性^[4],形成均匀的化学键合固定相,得到各种性能的固定相,具有无液坑、液层薄、热稳定性好、固定相传质快、耐溶剂、无固定液流失等优点,不仅改善了固定相的性能,提高了分离

* 通讯联系人:钱小红,研究员,研究方向为蛋白质化学与蛋白质组学。E-mail: qianxh1@yahoo.com.cn.

基金项目:国家重点基础研究规划项目(2006CB910803, 2007CB914104)、国家高技术研究发展计划项目(2006AA02A308, 2008AA02Z309)、国家自然科学基金项目(30621063, 20635010, 20735005, 20875101)、蛋白质组学国家重点实验室项目(SKLP-K200807, SKLP-O200808)。

收稿日期 2010-07-13

的选择性和柱效,同时克服了机械涂渍法所得产物附着力差、难以耐受长时间反复使用的缺点^[5]。本文对以硅胶为基质的化学键合固定相进行了评述。

1 硅胶基质的物理化学性质

化学键合固定相一般都采用硅胶(薄壳型或全多孔微型)为基体,在键合反应之前,要对硅胶进行酸洗、碱洗、中和、干燥活化等处理,然后再利用硅胶表面上的硅羟基与各种化合物进行反应,制备化学键合固定相,并通过改变键合相有机官能团的类型来改变分离的选择性,因此它适用于多种样品的分离,特别适用于分离保留因子(k)范围宽的样品^[6]。

硅羟基在硅胶表面上主要以自由型、孪生型、氢键型、三羟基型等 4 种形式存在^[7]。在 4 种类型的硅羟基中,有利于表面键合的只有自由型的硅羟基。根据晶体点阵计算和化学方法,测定得出硅胶在充分进行羟基化后,其表面的硅羟基数目最多可达 $8 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ^[8]。然而,到目前为止,硅胶与硅烷化试剂进行反应时,由于空间位阻原因,最大键合量为 $4 \sim 4.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2$,一般商品固定相只有 $2.4 \sim 3.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ^[9],因此仍有相当数量的硅羟基残存,且不同类型的硅羟基酸性不同,它们的平均电离平衡常

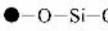
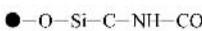
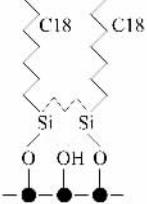
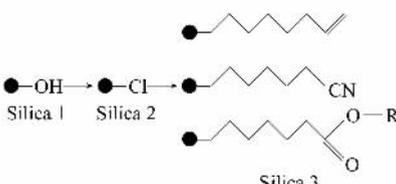
数($\text{p}K_a$)值约 7.1。所以在反相色谱分离碱性物质过程中,残留的硅羟基在一定的条件(如流动相 pH 值略为碱性)下会产生离子化作用,而与碱性物质发生离子交换,即所谓的“亲硅羟基作用”(silanophilic interaction)^[10],导致在分离极性化合物时不能实现理想的分离效果,易使生物大分子,特别是多肽、蛋白质等样品产生变性和非特异性吸附,产生变形色谱峰,并使回收率降低,从而大大限制了其在生物体系分离分析中的应用。因此,在制备固定相时,选择合适的键合相及合理的键合机制、尽量减弱“亲硅羟基作用”一直是色谱固定相研究的热门方向。Choi 等^[11]通过键合具有旋光性的(3,3'-联二苯-1,1'-联萘)-20-冠-6 为手性固定相,减弱了“亲硅羟基作用”,用于分离外消旋化的卡西酮及其类似物芳基- α -氨基酮类化合物,对 12 种分析物的分离因子和分辨率为 2.85 ~ 16.12 和 6.49 ~ 19.64。结果表明,此键合相能很好地减弱“亲硅羟基作用”,且对具有旋光性的卡西酮及其衍生物有很好的分离效果。

2 键合固定相的反应机制

用于制备键合固定相的化学反应机制可分为 6 种类型^[12],如表 1 所示。

表 1 化学键合固定相的键合机制

Table 1 Bonding mechanisms of chemically bonded stationary phases

No.	Name	Structure
1	silicate bonded phase	
2	silicon nitride bonded phase Silicon carbide bonded phase	
3	siloxane bonded phase	
4	amide bonded phase	
5	bidentate silane bonded phase	
6	bonded stationary phase through atom transfer radical polymerization (ATRP)	

2.1 传统的化学键合固定相

化学键合固定相通常利用硅胶表面的硅羟基与有机分子发生化学反应来制备。传统的制备方法主

要有 3 种 (1) 利用硅胶的酸性特征,使硅胶表面的硅羟基与醇类进行酯化反应,生成具有 Si-O-C 的硅酯型键合相。(2) 利用氯化硅胶与有机锂或格氏

试剂反应,形成硅碳型(Si-C)或硅氮型(Si-N)键合固定相。这种化学键合固定相稳定,适于在 pH 4~8 的介质中使用^[13]。(3)利用硅烷化试剂含有的 1~3 个官能团^[14]的特性,以有机氯硅烷或有机烷氧基硅烷与硅胶表面的硅醇基反应生成 Si-O-Si-C 键合相。这种键合相合成简单,稳定性好,能在 70 °C 以下、pH 2~8 范围内正常工作,因而是目前占绝对优势的化学键合固定相。

2.2 酰胺型键合固定相

酰胺型键合固定相(Si-O-Si-C-NH-CO)是一种具有“内嵌”极性官能团的固定相,其在分离极性、碱性化合物时具有良好的分离效果,该固定相可在简单的流动相(甲醇/水)体系下对碱性化合物进行有效的分离。徐荣来等^[15]以 3-巯丙基三甲氧基硅烷为偶联剂,将聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)键合到硅胶上,制备了 PNIPAM 硅胶键合固定相(SI-PNIPAM),并对其进行了元素分析、红外光谱等表征,考察了该固定相的适用 pH 范围及水解稳定性,结果表明该固定相具有较好的色谱性能与温敏特性,在 pH 2.5~7.5 时稳定性良好。

2.3 点击化学法键合固定相

点击化学法的主旨是通过小单元的拼接快速可靠地完成形形色色分子的化学合成,尤其强调开辟以碳-杂原子键(C-X-C)合成为基础的组合化学新方法,并借助点击化学反应来简单高效地获得分子多样性。点击化学的代表反应为铜催化的叠氮-炔基 Huisgen 环加成反应(Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition)。作者所在实验室利用点击化学反应制备了星型聚合物键合固定相,用于蛋白质样品的分离分析。Guo 等^[16]采用点击化学的方法,利用硅球表面上的叠氮化合物和 β -环糊精末端修饰的炔基,将 β -环糊精键合到硅胶表面,制备了多种反相 HPLC 固定相和手性固定相,并用傅里叶变换红外光谱仪和固体交叉极化/魔角旋转核磁共振对其进行检验,其保留机制通过亲水作用色谱分离核苷、有机酸和生物碱等不同极性化合物而得到验证。结果表明,在亲水作用色谱模式下,极化化合物(如核苷和低聚糖等)都能得到很好的分离;Kacprzak 等^[17]利用点击化学的方法,将金鸡纳生物碱衍生物键合到硅胶表面,制备了手性固定相,并与键合了疏醚的商品手性柱进行了分离效果的比较,结果发现在不同的分离模式和条件下,分离效果都非常相似,表明点击化学键合法是一种制备键合固定相行之有效的好方法;付春梅等^[18]利用 Cu^+ 催化的点击化学反应将 L-脯氨酸衍生物键合到叠氮

化改性硅胶上,制备了一种能有效拆分多种 D,L-氨基酸配体的手性配体交换色谱固定相。

2.4 双齿型键合固定相

双齿型键合固定相是新发展的一类固定相,它是指每个分子硅烷化试剂上含有两个硅原子,每个硅原子只有一个反应官能团,同时这两个硅原子由 -O- 或 -CH₂-CH₂- 等基团相连起来(如表 1 所示)。与传统的单齿键合相相比,该填料最突出的优点是在低、中、高 pH 值时都有很好的水解稳定性,这意味着可在高 pH 值流动相条件下对强碱性化合物进行有效的色谱分离。Kirkland 等^[19]制备了双齿键合 C18 固定相,该固定相在用于分离碱性物质时,有很高的柱效和良好的色谱峰对称性,该填料适用的 pH 值范围可扩展到 2~11.5。

2.5 原子转移自由基聚合法键合固定相

原子转移自由基聚合法(atom transfer radical polymerization, ATRP)是以简单的有机卤化物为引发剂、过渡金属配合物为卤原子载体,通过氧化还原反应在活性种与休眠种之间建立了可逆的动态平衡,从而实现了对聚合反应的控制。由表面原位引发聚合反应与基底化学键合制备的超薄聚合物膜引起了人们越来越多的注意,如 Huang 等^[20]利用引发原子转移自由基聚合方法,将聚甲基丙烯酸甲酯键合在硅球表面,并用于制备聚合物修饰的色谱固定相,结果发现接枝密度为 0.01~0.43 mol/nm²,且接枝链越长,疏水性越大。该方法用 CuCl 作为催化剂,不仅反应可控,能合成合适链长度的聚合物以得到好的分离效果,而且聚合物链的接枝密度高,可以减小因表面硅羟基裸露而导致的溶质与硅羟基之间的非特异性吸附。巯基化合物经自由基引发可以与不饱和烯烃发生链转移加成反应进行手性固定相合成^[21]。Liu 等^[22]利用硅胶担载巯基的链转移反应,在硅胶表面原位引发自由基聚合,制备了聚甲基丙烯酸甲酯修饰的反相固定相,聚合物接枝量较高,对于含氧芳香化合物具有良好的分离能力。

2.6 电荷转移法键合固定相

电荷转移型固定相是指配体上含有吸电子基团(如 -CH₂SO₃、-X、-NO₃、-CN 和 C=O 等)的固定相。供体通常是富电子的烯烃、炔烃或芳环,或含有弱酸性质子的化合物。某些杂环化合物分子由于电子云密度分布不均匀,有些原子附近的电子云密度较高,有些较低,这些分子即是电子供给体,又是电子接受体。该类固定相在 HPLC 中也有广泛的应用。作者所在实验室通过电荷转移法制备了卟啉类键合固定相,用于核苷酸的分离。West 等^[23]试图

在所有能得到的各类芳烃键合商品色谱柱和自己可以合成的芳烃化学键合相色谱柱中,以次临界液体作为流动相,研究各类有机物在不同色谱柱上的保留特性;他们的研究表明:电荷转移作用是有机化合物能在稠环芳烃键合相上有较大保留并得以分离的原因。Massolini 等^[24]用青霉素酰基转移酶作为手性键合固定相在气相色谱中分离了一系列 2-芳氧基-2-芳基乙酸化合物的同电子排列体的硫代硫酸盐衍生物。Yu 等^[25]通过在硅胶表面固定对硝基苯甲酸和萘基乙酸,制备了两种电荷转移的固定相,而硝基苯基部分和萘基部分通过氨基羟基烯醇的间隙嫁接到硅胶表面,进行 C60、C70 或是更大分子的富勒烯的分离,这是由于富勒烯含有丰富的 π - π 双键,可以作为电子给予体与芳环产生 π - π 相互作用,从而达到选择性分离。

3 键合相的种类

3.1 非极性键合固定相

这类固定相的键合基团为多种形式的非极性烃基、烷基链等。溶质分子与溶剂分子间的排斥力促使溶质分子与键合相的烃基发生疏水缔合,从而产生保留行为。十八烷基键合相(octadecyl silane, ODS 或 C18)是应用最广泛的非极性键合固定相,与极性流动相接触时,利用疏水溶剂作用,使溶质在固定相表面产生保留,但是因为 C18 基团空间体积较大,使有效孔径变小,所以在分离大分子化合物时柱效较低^[26]。

根据表面键合基团的不同,非极性键合固定相主要有如下几类:键合不同长度的单一烷基链的固定相,直链饱和烷烃的疏水特性随着烷基链长度的增加而增加,使溶质的保留因子 k 增大,保留时间延长,分离选择性改善,载样量提高,而短链烷基键合固定相分析速度较快,对于极性化合物可以得到较好的色谱峰,键合苯基的固定相适用于分离芳香化合物,其性能与短链烷基键合固定相类似;键合长、短两种烷基链的固定相又称为水平聚合(horizontal polymerization)键合固定相,这种方法可有效封闭残留的硅羟基,提高分离效率,键合异丙基和异丁基侧链的 C18 烷基链固定相起到立体保护的作用,它通过立体效应阻碍硅羟基与溶质的相互作用;键合中间镶嵌极性官能团(氨基、酰胺基、季铵基、氨基甲酸酯基)烷基链的固定相又称为静电屏蔽(electrostatic shield)键合固定相,它通过烷基链中下部镶嵌的极性官能团屏蔽硅羟基与分析物的相互作用。

3.2 弱极性键合固定相

Pesek 等^[27]用二羟基(DIOL)键合相制备了毛细管开管柱,并与 C18 色谱柱及手性键合固定相色谱柱进行了分离性能的比较。这种键合固定相既可以用于正相及反相分离模式分离有机酸及其共聚物,还可作为分离蛋白质的凝胶过滤色谱固定相。Li 等^[28]制备了对叔丁基-杯[6]-1,4-苯并冠醚-4-键合硅胶固定相,该配体结构中含杯芳烃和冠醚两种大环,两种大环的协同分离作用使该固定相对芳香族化合物分离选择性明显提高。这种键合相与 Pesek 等制备的毛细管开管柱^[27]具有相近的分离性能。

3.3 极性键合固定相

Takeuchi 等^[29]制备了氨基键合固定相,其兼有质子接受体和给予体的双重功能,可用于 3 种分离模式:正相色谱用于分离极性化合物,如芳胺类化合物、脂类、甾体化合物、氯代农药等;反相色谱用于分离单糖、双糖和多糖,还可以在酸性水溶液中作为弱阴离子交换剂,用于分离酚、羧酸、核苷酸。Dawson 等^[30]制备了氰基键合固定相,用于两种分离模式:正相色谱用于分离极性化合物;反相色谱可提供与 C18、C8、苯基色谱柱不同的选择性。芳硝基键合相具有电荷转移功能和弱极性,可用于正相及反相分离模式,对芳香族化合物及多环芳烃的分离有良好的选择性。

3.4 离子交换键合相

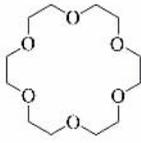
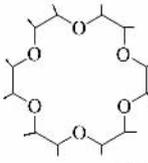
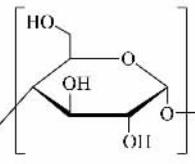
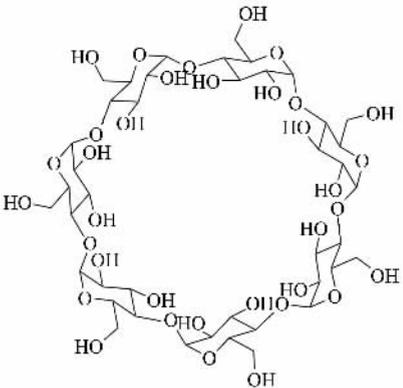
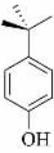
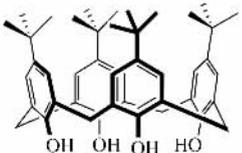
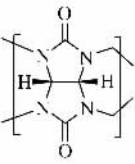
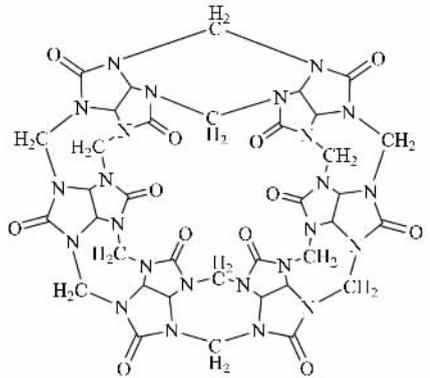
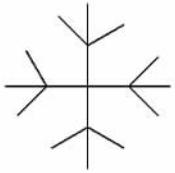
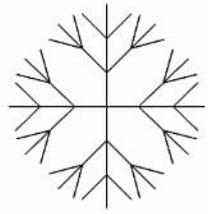
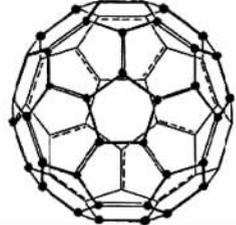
离子交换键合相包括阴离子交换固定相和阳离子交换固定相,前者在烷基、芳基上引入季胺基或胺基,后者引入磺酸基或羧基。Cohen 等^[31]综述了近 10 年运用离子交换键合固定相,以铵和乙腈的混合溶液作为流动相(也有一些文献中加入了少量的挥发性的离子配对剂),采用液相色谱-质谱联用的方法定量内源核苷酸和核苷酸类似物,并进一步应用于癌症治疗。

3.5 超分子化合物及其衍生物键合固定相

超分子化学是两个或多个化学物种借分子间的弱相互作用力形成的实体或聚集体的化学。超分子作用是具有分子识别能力的分子间作用,包括空间效应影响下的范德华力、静电引力、氢键力和疏水作用等。分子识别是主体(或受体)对客体(或底物)进行选择结合并产生主客体包结物。冠醚、环糊精、杯芳烃和葫芦脲是最具有代表性的超分子化合物,它们都具有环状或穴状大分子结构,并在其分子环内或穴内可以包结客体分子(包括生物分子)而形成主客体包结物(见表 2)。Hirose 等^[32]通过羟

表 2 超分子化合物及其衍生物和其他大分子键合相的结构

Table 2 Structures of supramolecular compounds, their derivatives and other giant molecules

Category	Name	Structure of monomer	Structure of integer
Supramolecular compounds and their derivatives	crown ethers bonded phase		
	β -cyclodextrin bonded phase		
	calixarenes bonded phase		
	cucurbituril bonded phase		
Other bonded phases	dendrimer bonded phase		
	fullerene bonded phase		

基或是甲氧基作为连接功能基团,制备了手性假-18-冠-6 醚硅胶键合固定相,对亲脂性胺进行了分离。Horváth 等^[33] 制备了一种新颖的吡啶并-18-冠-6 配体键合硅胶手性固定相,通过其立体结构内

部的两个叔丁基被连接到硅球表面,用来在高效液相色谱中分离消旋化的 α -(1-萘基)乙胺高氯酸盐和 1-苯巴比妥高氯酸盐。Feng 等^[34,35] 将 β -环糊精键合硅胶经对甲苯磺酰化后与甘氨酸反应得到甘氨酸

酸衍生化 β -环糊精键合硅胶固定相(GCDS),考察了 GCDS 对位置异构体、丹磺酰化氨基酸异构体、苯丙酸类药物等的分离性能,研究了流动相中甲醇浓度、pH 以及柱温对色谱保留行为的影响。Zhong 等^[36]通过偶联剂将各种二硝基氯苯衍生化的 β -环糊精配体键合到硅胶表面,制备了 9 种新型的二硝基苯取代的 β -环糊精手性固定相,用于对映体的分离,发现键合固定相在反相、极性有机、正相 3 种流动相模式下均无降解,非常稳定。Liu 等^[37]对比研究了两种杯芳烃键合相与其他 3 种固定相——环糊精键合硅胶固定相、氯丙烯键合硅胶固定相和 ODS 对激素类化合物的色谱分离性能,结果发现不同的键合相分离效果不同, β -环糊精明显好于其他的键合固定相。Dearden 等^[38]用葫芦脲作为固定相,考察了其邻、间、对苯二胺的分离效能,通过计算以及傅里叶变换离子回旋共振质谱和离子迁移率光谱测定,发现邻、间苯二胺主要和葫芦脲外部的低能位点进行结合,而对苯二胺主要与葫芦脲内部的高能位点进行结合,从而实现分离。O'Sullivan 等^[39]在超临界流体中将不同代的树枝状大分子键合在硅胶表面并封尾,增大了固定相的应用范围,他们还对所制备的固定相的性质及应用情况进行了评价,发现其对具有芳香族结构特征的化合物有好的分离效果。Vallant 等^[40]将具有不同孔隙度的二氧化硅颗粒用氯丙基修饰,然后与 C60 富勒烯或 C60 环氧富勒烯共价连接,制备了一种新的固定相,用于纯化具有不同性质的生物分子。该固定相能够保留小的亲水性分子,还可用于脱盐和预富集蛋白质和多肽,尤其是磷酸肽。

3.6 手性键合硅胶固定相

手性键合固定相在手性色谱中占有重要的地位。这类填料是将具有手性识别作用的配基通过稳定的共价键连接于适当的固相载体上,制备了手性固定相。按配基的种类,用于分析和制备分离的手性固定相(chiral stationary phase, CSP)主要有“Pirkle”固定相、多糖类固定相、蛋白质类手性固定相、大环抗生素类固定相、配体交换手性固定相和环糊精手性固定相等,其中多糖类衍生物手性固定相又包含纤维素衍生物手性固定相和直链淀粉类手性固定相。Xie 等^[41]实现了高效液相色谱法在 α 1-酸糖蛋白手性柱上对苯丙哌林、MT-A5、MT-酸、泮托拉唑和雷贝拉唑等 6 种手性化合物的对映体分离,并成功用于手性药物合成中的对映体过量百分率的测定。Yang 等^[42]同样在 α 1-酸性糖蛋白柱上先后拆分了马来酸曲美布汀对映体和布洛芬对映体,并

考察了有机改性剂的种类、浓度、磷酸盐缓冲液的 pH 值及流速对对映体拆分的影响。Bosáková 等^[43]比较了瑞斯托菌素 A(ristocetin A)、游壁菌素(teicoplanin)和万古霉素(vancomycin)3 种大环糖肽类抗生素手性固定相对异丙嗪的手性分离测定结果,发现万古霉素手性固定相的分离效果最好。Staroverov 等^[44]在温和的条件下将糖肽类抗生素艾利莫霉素键合到环氧基硅胶上,制备了一种新型手性色谱柱,与结构类似的万古霉素键合手性固定相相比,该固定相对氨基酸对映体有更高的分离选择性。

3.7 药用活性成分键合硅胶固定相

中草药是我国传统的药用资源,各种具有药理活性的成分来源广泛,具有多种活性基团,与生物酶等许多物质之间存在着相互作用,可用作色谱固定相配体,在蛋白质等生化分离方面有应用前景。Calleri 等^[45]将青霉素酶键合到硅胶表面,分离了一系列苯氧烷基羧酸对映异构体,并作为表面催化剂用于制备光学纯氨基青霉素,同时对其分析应用进行了评述。House^[46]用一组基于萝芙木生物碱育亨宾(Yohimbine)及其衍生物的硅胶键合手性色谱固定相分离了外消旋混合物,育亨宾及其同系物的羟基通过氨基甲酸乙酯键合到硅胶表面,制备了含中草药配基的色谱固定相,研究发现该配基具有多种手性辨识能力。

3.8 其他键合硅胶固定相

陈国文等^[47]采用发散式合成法合成了末端为烯丙基的第一代(G1)与第二代(G2)硅碳烷树枝状大分子,通过硅氢加成反应使其进一步与球形硅胶反应,将硅碳烷树枝状大分子的两代分子分别键合于硅胶上,制备了有机硅树枝状大分子-硅胶键合固定相,对醇类、烷基取代苯类、*N*-取代苯类、甲基丙烯酸酯类、邻苯二甲酸酯类等具有良好的分离效果;王利娟等^[48]将 γ -(2,3-环氧丙氧基)丙基三甲氧基硅烷与十八酸反应,再键合到硅胶整体柱上,得到了酯型十八烷基键合固定相,该硅胶整体柱具有较好的反相色谱性能。Miyazawa 等^[49]研究用纤维素-三(3,5-二甲苯基氨基甲酸酯)固定相对非蛋白氨基酸酯类的对映体化合物进行拆分,结果显示,其对几乎所有的烷基酯类和苯甲基酯类对映体化合物的拆分性能优于甲基酯类,而对 β -氨基酸衍生物的拆分性不及 α -氨基酸衍生物。Kamiusuki 等^[50]制备了支化聚氟烷基硅烷键合固定相,通过元素分析和核磁共振检测发现其在硅胶表面的覆盖和封尾行为同 ODS 十分相似,并研究了支化聚氟烷基硅胶键合

到硅胶上的反应条件,评价了它的分离性质,结果表明在甲醇-水和乙腈-水作为流动相时氟化物键合固定相的损失小于 ODS 键合固定相,但它们在高效液相色谱中的保留机制非常相似。

4 展望

随着色谱技术在制药、生物、食品、环境等的广泛应用,除了对色谱填料 pH 值使用范围、柱效、选择性、稳定性以及色谱柱使用寿命的要求外,制备过程简单、重复性好、成本低也是色谱填料研发的重要内容。今后硅胶基质色谱填料的发展还将集中在以下几个方面:高纯硅球的制备、色谱分离机理及其应用的深入研究;应用多种合成手段,结合多种机理来尽可能抑制残留硅羟基对分离物的影响;发展多种硅烷化试剂,以便制备多种类的固定相来分离复杂多样的样品;研究不同结构、不同性质的化学键合相的色谱保留行为,期望在制备新型高效键合固定相方面取得突破。

硅胶键合固定相的应用范围将日益广泛,除用于常见化合物的分离分析外,还将集中应用在包括天然药物、合成药物及生化药品主成分的含量测定,各种杂质及分解产物的鉴别和分析,药物代谢产物的分析、鉴定及临床治疗药物的检测和体内物质的分析等的药物领域、食品安全的分析领域,以及进一步应用在生物化学领域对微量生物大分子物质(如蛋白质、多肽、核苷酸以及酶)的纯化、分离和分析。

参考文献:

- [1] Unsal E, Elmas B, Çağlayan B, et al. *Anal Chem*, 2006, 78(16): 5868
- [2] Li L S, Liu M, Da S L, et al. *Talanta*, 2004, 62(3): 643
- [3] Jal P K, Patel S, Mishra B K. *Talanta*, 2004, 62(5): 1005
- [4] Claessens H A, van Straten M A. *J Chromatogr A*, 2004, 1060 : 23
- [5] Maldaner L, Jardim I C. *J Sep Sci*, 2010, 33(2): 174
- [6] Molíková M, Jandera P. *J Sep Sci*, 2010, 33(4/5): 453
- [7] Buszewski B, Jezierska M, Welniak M, et al. *J High Resol Chromatogr*, 1998, 21(5): 267
- [8] Bidlingmaier B, Unger K K, von Doehren N. *J Chromatogr A*, 1999, 832 : 11
- [9] Dorsey J G, Cooper W T. *Anal Chem*, 1994, 66(17): 857A
- [10] Kurtoglu S, Atabek M E, Dizdarer C, et al. *Pediatric Diabetes*, 2009, 10(6): 401
- [11] Choi H J, Jin J S, Hyun M H. *J Chromatogr B*, 2008, 875 : 102
- [12] Ju H X. *Bioanalytical Chemistry*. Beijing: Science Press (鞠焯先. 生物分析化学. 北京: 科学出版社), 2007
- [13] Ciampi S, Harper J B, Gooding J J. *Chem Soc Rev*, 2010, 39(6): 2158
- [14] Royer B, Cardoso N F, Lima E C, et al. *J Hazard Mater*, 2010, 181 : 366
- [15] Xu R L, Yang T H, Dong W. *Chinese Journal of Chromatography* (徐荣来, 杨同华, 董伟. 色谱), 2008, 26(2): 246
- [16] Guo Z M, Jin Y, Liang T, et al. *J Chromatogr A*, 2009, 1216 : 257
- [17] Kacprzak K M, Maier N M, Lindner W. *Tetrahedron Lett*, 2006, 47(49): 8721
- [18] Fu C M, Shi H Y, Li Z W, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (付春梅, 石宏宇, 李章万, 等. 分析化学), 2010, 38(7): 1011
- [19] Kirkland J J, Adams J B, van Straten M A, et al. *Anal Chem*, 1998, 70(20): 4344
- [20] Huang C, Tassone T, Woodberry K, et al. *Langmuir*, 2009, 25(23): 13351
- [21] Goraca A, Ciejka E, Piechota A. *J Physiol Pharmacol*, 2010, 61(3): 333
- [22] Liu S J, Dun H J, Zhou F, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (刘淑娟, 敦惠娟, 周峰, 等. 色谱), 2002, 20(5): 432
- [23] West C, Lesellier E. *J Chromatogr A*, 2006, 1115 : 233
- [24] Massolini G, Fracchiolla G, Calleri E, et al. *Chirality*, 2006, 18(8): 633
- [25] Yu Q W, Shi Z G, Lin B, et al. *J Sep Sci*, 2006, 29(6): 837
- [26] Gritti F, Guiochon G. *J Chromatogr A*, 2006, 1103 : 69
- [27] Pesek J J, Matyska M T. *J Chromatogr A*, 2000, 887 : 31
- [28] Li L S, Da S L, Feng Y Q, et al. *J Chromatogr A*, 2004, 1040 : 53
- [29] Takeuchi T, Oktavia B, Lim L W. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 393(4): 1267
- [30] Dawson E D, Wallen S L. *J Am Chem Soc*, 2002, 124(47): 14210
- [31] Cohen S, Jordheim L P, Megherbi M, et al. *J Chromatogr B*, 2010, 878 : 1912
- [32] Hirose K, Nakamura T, Nishioka R, et al. *Tetrahedron Lett*, 2003, 44(8): 1549
- [33] Horváth G, Huszthy P, Szarvas S, et al. *Ind Eng Chem Res*, 2000, 39(10): 3576
- [34] Feng Y Q, Xie M J, Da S L. *Anal Chim Acta*, 2000, 403 : 187
- [35] Feng Y Q, Da S L. *Chinese Journal of Chromatography* (冯钰琦, 达世禄. 色谱), 2000, 18(3): 224
- [36] Zhong Q Q, He L F, Beesley T E, et al. *J Chromatogr A*, 2006, 1115 : 19
- [37] Liu M, Li L S, Da S L, et al. *Talanta*, 2005, 66(2): 479
- [38] Dearden D V, Ferrell T A, Asplund M C, et al. *J Phys Chem A*, 2009, 113(6): 989
- [39] O'Sullivan G P, Scully N M, Prat J M, et al. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394(5): 1261
- [40] Vallant R M, Szabo Z, Bachmann S, et al. *Anal Chem*, 2007, 79(21): 8144
- [41] Xie Z Y, Zhong D F, Li Y. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (谢智勇, 钟大放, 李岩. 分析化学), 2006, 34(2): 223
- [42] Yang L, Ran G M, Zhang C H, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (杨凌, 冉桂梅, 张才华, 等. 分析化学), 2005, 33(5): 668
- [43] Bosáková Z, Kloučková I, Tesařová E. *J Chromatogr B*,

- 2002 , 770 : 63
- [44] Staroverov S M , Kuznetsov M A , Nesterenko P N , et al. *J Chromatogr A* , 2006 , 1108 : 263
- [45] Calleri E , Massolini G , Lubda D , et al. *J Chromatogr A* , 2004 , 1031 : 93
- [46] House D W. *US* , 6132606. 2000-10-17
- [47] Chen G W , Zhao S G , Feng S Y. *Journal of Shandong University : Natural Science* (陈国文 , 赵士贵 , 冯圣玉. 山东大学学报 : 理学版) , 2005 , 40(6) : 83
- [48] Wang L J , Yang G L , Li X , et al. *Chinese Journal of Chromatography* (王利娟 , 杨更亮 , 李煦 , 等. 色谱) , 2005 , 23 (5) : 504
- [49] Miyazawa T , Shindo Y , Yamada T. *Chromatographia* , 2004 , 60(7/8) : 419
- [50] Kamiyusuki T , Monde T , Yano K , et al. *Chromatographia* , 1999 , 49(11/12) : 649