



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108885196 A

(43)申请公布日 2018.11.23

(21)申请号 201780019971.2

(22)申请日 2017.03.23

(30)优先权数据

2016-058225 2016.03.23 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.09.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2017/011655 2017.03.23

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/164289 JA 2017.09.28

(71)申请人 株式会社大赛璐

地址 日本大阪府

(72)发明人 柴田彻 新藏聪

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 张平元

(51)Int.Cl.

G01N 30/88(2006.01)

G01N 30/02(2006.01)

权利要求书3页 说明书21页 附图3页

(54)发明名称

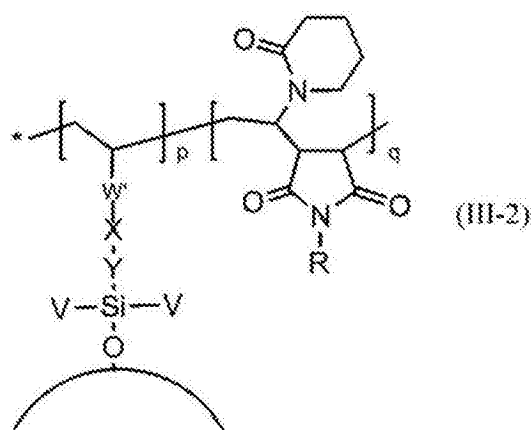
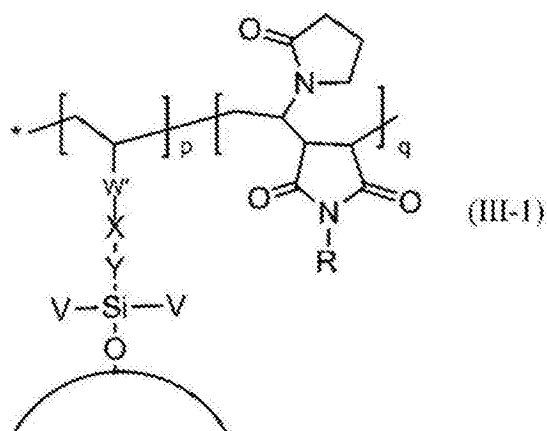
色谱用的固定相

(57)摘要

本发明提供具有良好的分子识别能力的色谱用的固定相。具体而言,本发明提供负载有共聚物的载体,所述共聚物的主链的重复单元包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架。

1. 色谱用的固定相,其包含负载有聚合物的载体,所述聚合物的主链的重复单元包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、并包含酰亚胺骨架。

2. 根据权利要求1所述的色谱用的固定相,其具有以下的式(III-1)或(III-2)所示的结构,



式III-1或III-2中,

W' 为单键或任选具有支链的碳原子数1~10的亚烷基,

X为酰胺基、酯基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、醚基、亚砷基、砷基、硫醚基、碳原子数6~20的亚芳基或磷酸酯基,

Y为碳原子数1~30的亚烷基,

V为与载体表面键合的醚基、碳原子数1~5的烷氧基或碳原子数1~3的烷基,

p为1~10,

q为10~1500,

R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。

3. 根据权利要求1或2所述的色谱用的固定相,其为球形粒子状。

4. 根据权利要求1~3中任一项所述的色谱用的固定相,其平均粒径为0.1 μ m~1000 μ m。

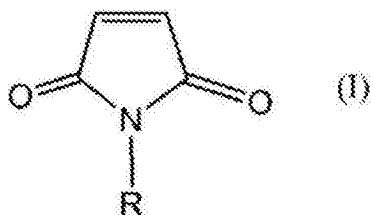
5. 根据权利要求1~3中任一项所述的色谱用的固定相,其为整块状。

6. 根据权利要求1~5中任一项所述的色谱用的固定相,其为超临界流体色谱用的固定相。

7. 目标物质的分离方法,其包括:使用权利要求1~5中任一项所述的固定相、和包含洗

脱液或超临界流体的流动相而分离目标物质的工序。

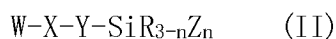
8. 色谱用的固定相的制造方法,其包括:使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、和下述式(I)所示的化合物、及键合有聚合性官能团的载体共聚的工序,



式中,R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。

9. 根据权利要求8所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,所述聚合性官能团为乙烯基、烯丙基、异丙烯基、或 ω 位具有双键的碳原子数4~12的烯基。

10. 根据权利要求8或9所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,键合有聚合性官能团的载体为通过使下述式(II)所示的化合物与硅胶进行硅烷偶联而得到的表面修饰硅胶,



式(II)中,

W为乙烯基、烯丙基、异丙烯基、或 ω 位具有双键的碳原子数4~12的烯基,

X为酰胺基、酯基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、醚基、亚砷基、砷基、硫醚基、或磷酸酯基,

Y为碳原子数1~30的亚烷基,

Z为碳原子数1~30的亚烷基,

R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,

Z为能够使式(I)中的硅原子与载体之间成键的离去基团,

n为1~3的整数。

11. 根据权利要求10所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,

所述W为乙烯基,

X为酰胺基或碳原子数1~3的N-烷基酰胺基,

Y为碳原子数1~5的亚烷基,

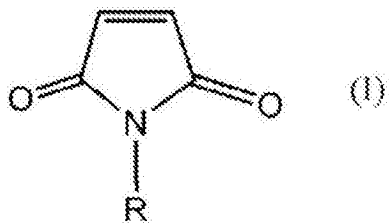
R独立地为甲基、乙基或丙基,

Z为碳原子数1~5的烷氧基、卤素、碳原子数1~20的烷基巯基、二甲基氨基、二乙基氨基、吡咯烷基、咪唑基、烯丙基或2-甲基-2-丙烯基。

12. 色谱用的固定相的制造方法,其包括:

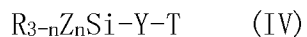
使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮与式(I)所示的化合物在末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂的存在下进行自由基聚合而得到聚合物的工序;和

使所得聚合物在载体表面进行硅烷偶联的工序,



式(I)中,R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。

13.根据权利要求12所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂为下述式(IV)所示的化合物,



式(IV)中,

R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,

Z为能够使式(IV)中的硅原子与载体之间成键的离去基团,

Y为碳原子数1~30的亚烷基,

T为链转移性官能团,

n为1~3的整数。

14.根据权利要求8~13中任一项所述的制造方法,其中,所述色谱用的固定相为超临界流体色谱用的固定相。

色谱用的固定相

技术领域

[0001] 本发明涉及色谱用的固定相。更具体而言,涉及用于液相色谱、超临界流体色谱的固定相。

背景技术

[0002] 作为用于分析混合物的成分及其含量并进行分离纯化的方法,色谱法为最有效的方法。其利用物质相对于在柱或被称为毛细管的管中空间性固定的多孔性固体(固定相)和在其间隙中移动的流体(流动相)的固有的分配比(也可以理解为吸附平衡)来分离不同的物质。作为其代表性的例子,包括气相色谱法和液相色谱法。前者使用气体作为流动相。

[0003] 但是,为了使分离对象混于气相中进行移动,必须有一定以上的蒸气压,因此仅能应用于分子量低且不具有电荷的比较有限的分析对象。另一方面,液相色谱法使用液体作为流动相,如果选择合适的流动相,则可适用于大多数物质。

[0004] 作为区别于液相色谱法的、用于分析混合物的成分及其含量并进行分离纯化的方法,包括超临界流体色谱法(SFC)。其利用了处于超临界或亚临界状态的流体与气体相比明显可更好地溶解其它化合物,与液体相比具有更低的粘度、更高的扩散速度这样的特征。使用二氧化碳作为超临界流体的SFC 出于安全性、装置上的理由而通常被采用,其应用正逐步扩大。

[0005] 在液相色谱法中,使用极性高的固定相与极性低的流动相的组合的正相色谱法、与其极性相反的反相色谱法是典型的模式。最近,进一步,两相均为极性的所谓HILIC也受到关注。

[0006] 与此相对,超临界流体色谱法(SFC)被认为其特征与正相色谱法类似。但其特征、机理尚未被充分解明的方面还很多。另外,还存在下述想法:通过从以超临界或亚临界二氧化碳为主的流动相逐渐向极性强的流动相、即反相体系转移,能够覆盖更宽极性范围的分离对象。

[0007] 作为液相色谱用的固定相,已知有利用聚乙烯吡咯烷酮的例子。

[0008] 具体而言,存在下述例子:将因发生交联而不溶于溶剂的聚(1-乙烯基-2- 吡咯烷酮)(PVP)的粒子填充于色谱柱并将其作为固定相使用(例如,非专利文献1)。

[0009] 另外,还尝试了使PVP键合于作为硬质的凝胶的硅胶表面。例如,在蛋白质、微生物的分离中将硅胶作为固定相时,有时会因所谓的变性而导致目标物的性质发生改变、或回收率显著降低,因此,为了防止该现象,有想法是利用亲水性的聚合物包覆表面而屏蔽硅胶的影响(非专利文献2)。

[0010] 另外,关于键合PVP的方法,已进行了若干尝试。例如,已报道了在硅胶上包覆PVP之后利用 γ 射线进行交联处理(非专利文献1)。另外,在另外的报道中,公开了在使具有乙烯基、甲基丙烯酰氧基的硅烷偶联剂键合于具有硅胶的基础上,使乙烯基吡咯烷酮单体与其共聚的方法(非专利文献3)。然而,这些方法可能是由于其峰通常较宽,因此在HPLC这样的液相色谱很少被利用。

[0011] 作为可用于SFC的固定相,正如在例如非专利文献4中介绍的那样,包括硅胶或利用各种原子团修饰硅胶表面而成的那些。

[0012] 作为修饰基团,包括:包含各种链长的饱和烷基链的修饰基团,利用烷基链或包含酰胺键、醚键的烷基链将一个或两个苯环、稠合多环芳香族烃基连接而成的修饰基团,以卤素取代苯环为特征的修饰基团,连接有卤代烷基的修饰基团,连接有2,3-二羟基丙基、CN基、NH₂基等极性基团的修饰基团,作为高分子修饰基团的交联聚苯乙烯、聚乙烯醇、聚乙二醇等。另外,具有石墨结构的碳也是具有特征的固定相。这些中,尤其是在SFC中被经常使用的,是被称为2-乙基吡啶的键合有(2-吡啶基)乙基的物质,其不仅可使在普通的固定相中会发生拖尾而得到宽度较宽的峰的碱性化合物也变为尖锐的峰而洗脱,而且对于酸性化合物也能够适度地保持,因此优选使用。

[0013] 然而,仍然如非专利文献3中指出的那样,对各种化合物的保持的倾向相似、没有特征差异的固定相也不少。

[0014] 迄今为止,已被用作SFC用的固定相的物质大多为硅胶或利用各种低分子化合物修饰硅胶表面而成的那些。另一方面,也有利用高分子修饰硅胶表面而成的固定相的报道例。例如,已知专利文献1中将在主链的重复单元中具有芳环和双极性原子团的聚合物作为固定相,不仅对各种化合物的分离是有效的,也具有好的分子形状识别性。但是,与上述2-乙基吡啶柱不同,存在在分析碱性物质时发生拖尾,得到宽度较宽的峰这样的问题。

[0015] 另外,这些固定相是将上述聚合物负载于粒子状或整块状的载体制备而成的。因此,如果以原本可溶解这些的溶剂或包含其的混合溶剂作为展开溶剂,则存在部分或全部发生溶解而损害作为柱的功能的情况。

[0016] 现有技术文献

[0017] 专利文献

[0018] 专利文献1:日本特愿2012-162518号公报

[0019] 非专利文献

[0020] 非专利文献1:Kohler,Chromatographia,21(1986)573

[0021] 非专利文献2:I.Krasilnikov他、J.Chromatogr.,446(1988)211

[0022] 非专利文献3:C.R.Kou他、Fresenius J.Anal.Chem.,336(1990)409

[0023] 非专利文献4:C.West他、J.Chromatogr.A,1203(2008)105

发明内容

[0024] 发明要解决的问题

[0025] 本发明可解决如上所述的问题,课题在于提供具有良好的分子识别能力的色谱用的固定相。

[0026] 解决问题的方法

[0027] 本发明人等为了解决上述课题而进行了深入研究,结果发现,包含负载有聚合物的载体、且所述聚合物是在主链的重复单元中具有吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、并具有酰亚胺骨架的聚合物的固定相,在色谱中可表现出良好的分子识别能力,从而完成了本发明。

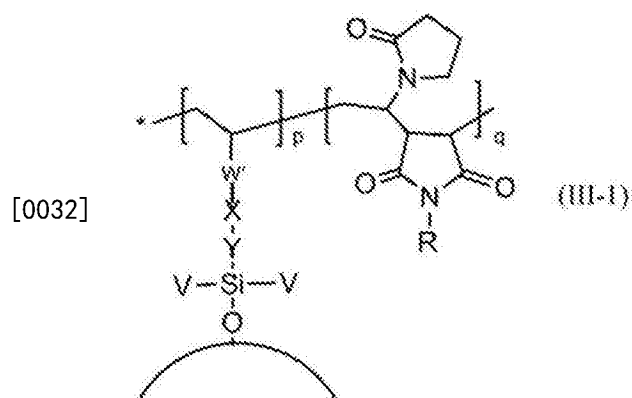
[0028] 即,发明如下所述。

[0029] [1] 色谱用的固定相,其包含负载有聚合物的载体,所述聚合物的主链的重复单元

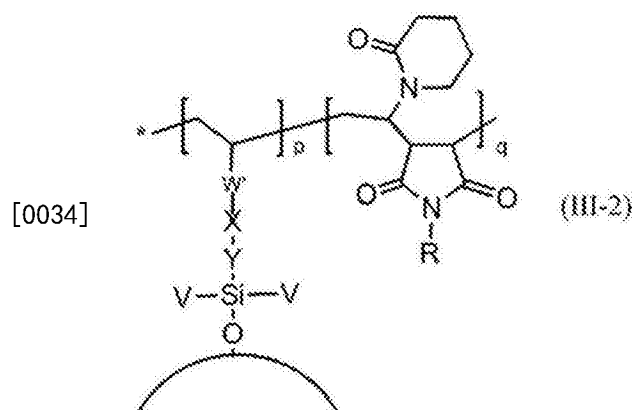
包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、并包含酰亚胺骨架。

[0030] [2] 上述[1]所述的色谱用的固定相,其具有以下式(III-1)或式(III-2)所示的结构。

[0031] [化学式1]



[0033] [化学式2]



[0035] (式III-1或III-2中,W'为单键或任选具有支链的碳原子数1~10的亚烷基,X为酰胺基、酯基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、醚基、亚砷基、砷基、硫醚基、碳原子数6~20的亚芳基或磷酸酯基,Y为碳原子数1~30的亚烷基,V为与载体表面键合的醚基、碳原子数1~5的烷氧基或碳原子数1~3的烷基.p为1~10,q为10~1500.R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。)

[0036] [3] 上述[1]或[2]所述的色谱用的固定相,其为球形粒子状。

[0037] [4] 上述[1]~[3]中任一项所述的色谱用的固定相,其平均粒径为0.1μm~1000μm。

[0038] [5] 上述[1]~[3]中任一项所述的色谱用的固定相,其为整块状。

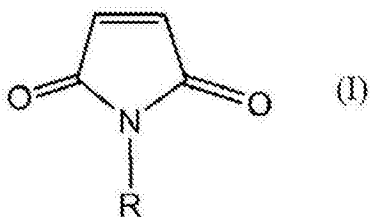
[0039] [6] 上述[1]~[5]中任一项所述的色谱用的固定相,其为超临界流体色谱用的固定相。

[0040] [7] 目标物质的分离方法,其包括:使用[1]~[5]中任一项所述的固定相和包含洗脱液或超临界流体的流动相来分离目标物质的工序。

[0041] [8] 色谱用的固定相的制造方法,其包括:使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、下述式(I)所示的化合物、及键合有聚合性官能团的载体共聚的工序。

[0042] [化学式3]

[0043]

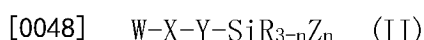


[0044] (式中,R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。)

[0045] [9]上述[8]所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,上述聚合性官能团为乙烯基、烯丙基、异丙烯基或 ω 位具有双键的碳原子数4~12的烯基。

[0046] [10]上述[8]或[9]所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,键合有聚合性官能团的载体为通过使下述式(II)所示的化合物与硅胶进行硅烷偶联而得到的表面修饰硅胶。

[0047] [化学式4]

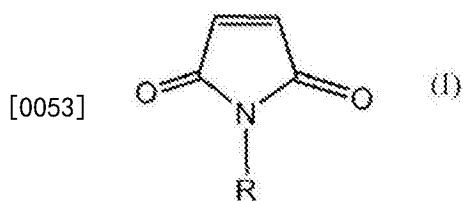


[0049] (式(II)中,W为乙烯基、烯丙基、异丙烯基或 ω 位具有双键的碳原子数4~12的烯基,X为酰胺基、酯基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、醚基、亚砷基、砷基、硫醚基、碳原子数6~20的亚芳基或磷酸酯基,Y为碳原子数1~30的亚烷基,Z为碳原子数1~30的亚烷基,R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,Z为能够使式(I)中的硅原子与载体之间成键的离去基团。n为1~3的整数。)

[0050] [11]上述[10]所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,上述W为乙烯基,X为酰胺基或碳原子数1~3的N-烷基酰胺基,Y为碳原子数1~5的亚烷基,R独立地为甲基、乙基或丙基,Z为碳原子数1~5的烷氧基、卤素、碳原子数1~20的烷基巯基、二甲基氨基、二乙基氨基、吡咯烷基、咪唑基、烯丙基或2-甲基-2-丙烯基。

[0051] [12]色谱用的固定相的制造方法,其包括:使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮与式(I)所示的化合物在末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂的存在下进行自由基聚合而得到聚合物的工序、和使所得聚合物在载体表面进行硅烷偶联的工序。

[0052] [化学式5]

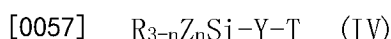


[0053]

[0054] (式中,R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。)

[0055] [13]上述[12]所述的色谱用的固定相的制造方法,其中,末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂为下述式(IV)所示的化合物。

[0056] [化学式6]



[0058] (式(IV)中,R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,Z为能够使式(IV)中的硅原子与载体之间成键的离去基团。Y为碳原子数1~30的亚烷基,T为链转移性官能团。n为1~3的整数。)

[0059] [14]上述[8]～[13]中任一项所述的制造方法,其中,上述色谱用的固定相为超临界流体色谱用的固定相。

[0060] 发明的效果

[0061] 根据本发明,可提供具有良好的分子识别能力的色谱用的固定相。

附图说明

[0062] [图1]使用实施例1的固定相、通过SFC来分离咖啡因、茶碱、可可碱、副黄嘌呤而得到的色谱图。

[0063] [图2]使用实施例1的固定相、通过SFC来分离2'-、3'-、4'-羟基黄烷酮异构体而得到的色谱图。

[0064] [图3]使用实施例3的固定相、通过SFC来分离咖啡因、茶碱、可可碱、副黄嘌呤而得到的色谱图。

[0065] [图4]使用比较例1的固定相、通过SFC来分离2'-、3'-、4'-羟基黄烷酮异构体而得到的色谱图。

[0066] [图5]使用比较例1的固定相、通过SFC来分离咖啡因、茶碱、可可碱、副黄嘌呤而得到的色谱图。

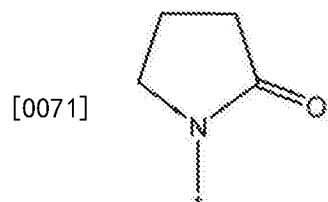
具体实施方式

[0067] 本发明的色谱用的固定相包含负载有共聚物的载体,所述共聚物的主链的重复单元包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、并包含酰亚胺骨架。

[0068] 需要说明的是,本发明中的固定相是指在色谱法中被固定于分析用具(柱或毛细管)的内部,使分离对象物质在与其接触的同时在其与流动的流体之间分配而实现分离的材料,在其为粒子的情况下,有时也指通过填充该粒子而形成的聚集体,另外有时指其单个的粒子。

[0069] 主链的重复单元中具有吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、并具有酰亚胺骨架是指,下式所示的吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架键合于共聚物分子的主链。需要说明的是,在本发明中,从确保作为固定相的性能的观点出发,优选共聚物分子中的吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架的单元的比例为10～90摩尔%、酰亚胺骨架的比例为90～10摩尔%,该比例更优选为:吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架的单元20～80摩尔%、酰亚胺骨架的单元80～20摩尔%。

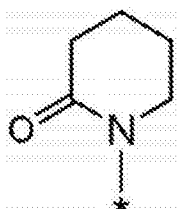
[0070] [化学式7]



[0072] (式中,星号表示与共聚物主链键合的位置。)

[0073] [化学式8]

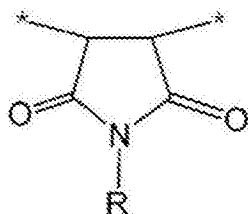
[0074]



[0075] (式中,星号表示与共聚物主链键合的位置。)

[0076] [化学式9]

[0077]

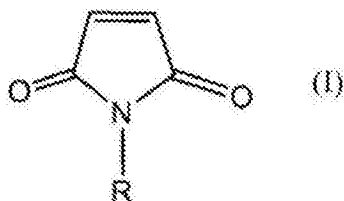


[0078] (式中,R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。星号表示与共聚物主链键合的位置。需要说明的是,上述酰亚胺骨架上键合的2个立体化学存在顺式异构体和反式异构体,并不限于其中的任一者。)

[0079] 酰亚胺骨架优选为源自以下的式(I)所示的马来酰亚胺化合物的那些。

[0080] [化学式10]

[0081]



[0082] (式中,R为选自氢、碳原子数1~6的烷基、碳原子数3~12的环烷基、苯基及羟基苯基中的基团。)

[0083] 上述式(I)中,R优选为氢、环己基、或苯基。

[0084] 本发明的固定相中,从其稳定性、分离性能的观点出发,更优选的实施方式是共聚物负载于载体、在载体与共聚物之间形成化学键。具体而言,例如可示例出以下的制造方法。

[0085] 在以下制造方法中,根据(1)~(7)的制造方法,会在共聚物与载体之间生成化学键(共价键)。另一方面,根据(8)和(9)的制造方法,通过使聚合物彼此在载体的表面上交联而存在,共聚物不会从载体表面洗脱。

[0086] 在超临界流体色谱用的固定相中,能够利用与载体之间的物理性结合而包覆共聚物,但在这样的情况下,有时也会因溶剂的存在而导致共聚物洗脱,因此不能说是优选的方法。

[0087] (1) 制造方法,其包括使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、式(I)所示的化合物、及键合有聚合性官能团的载体进行自由基共聚的工序。

[0088] (2) 制造方法,其包括使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、和式(I)所示的化合物在末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂的存在下进行自由基聚合而得到共聚物的工序、和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序。

[0089] (3) 制造方法,其包括通过向载体表面导入成为休眠种(dormant species)的共

价键,并使用1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮和式(I)所示的化合物从载体表面进行活性自由基聚合,从而向载体表面导入主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、并包含酰亚胺骨架的聚合物的工序。

[0090] (4) 制造方法,其包括:使具有聚合性双键的硅烷偶联剂、1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、及式(I)所示的化合物共聚的工序;和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序。

[0091] (5) 制造方法,其包括向载体表面导入链转移性官能团,使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮与式(I)所示的化合物进行自由基聚合的工序。

[0092] (6) 制造方法,其包括:使在起始末端具有反应性甲硅烷基的阴离子引发剂、1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、及式(I)所示的化合物进行阴离子聚合而得到共聚物的工序;和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序。

[0093] (7) 制造方法,其包括:在使阴离子引发剂、1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、及式(I)所示的化合物进行阴离子聚合后,使具有反应性甲硅烷基的终止剂发挥作用而得到共聚物的工序;和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序。

[0094] (8) 制造方法,其包括:将包含1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、式(I)所示的化合物、交联剂及引发剂的组合物与载体混合并使其进行交联反应的工序。

[0095] (9) 制造方法,其包括在载体的表面包覆使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮与式(I)所示的化合物共聚而得到的共聚物、并通过照射 γ 射线或电子束而使其进行交联反应的工序。

[0096] 在任一方法中,均可以根据聚合时的聚合温度、聚合溶剂、添加剂等而控制生成共聚物的立构规整性。

[0097] 针对(1)的制造方法进行说明。

[0098] 用于本发明的固定相的(1)的制造方法的键合有聚合性官能团的载体可以通过以下方法制作。

[0099] 作为键合于载体的聚合性官能团,可列举自由基聚合性官能团,例如可列举:乙烯基、烯丙基、异丙烯基、或在 ω 位具有双键的碳原子数4~12的烯基。其中,优选乙烯基、烯丙基或异丙烯基。

[0100] 另外,作为载体,可列举多孔性有机载体或多孔性无机载体,可优选列举多孔性无机载体。适合作为多孔性有机载体的物质为选自聚苯乙烯、聚(甲基)丙烯酸酰胺、聚(甲基)丙烯酸酯等的高分子物质,适合作为多孔性无机载体的物质为硅胶、氧化铝、氧化锆、二氧化钛、氧化镁、玻璃、高岭土、氧化钛、硅酸盐、羟基磷灰石等。优选的载体为硅胶、氧化铝或玻璃。

[0101] 另外,最近的色谱用填充粒子包括使用了被称为核壳或外围(peripheral)的仅使表层为多孔性的载体的那些,被认为可获得较高的柱效率。在本发明中也可以使用这些载体,还可以使用采用了上述列举的材料的核壳型或外围型的载体。

[0102] 使用多孔性有机载体作为载体的情况下,可通过与公知的交联剂的共聚法、或利用X射线、 γ 射线、电子束的交联,使上述聚合性官能团与载体形成化学键。

[0103] 使用硅胶作为载体的情况下,可列举上述的聚合性官能团经由硅胶所具有的硅烷醇基而与载体形成化学键的形式。

[0104] 在使用硅胶以外的载体的情况下,通过进行载体的表面处理,可抑制分离对象物质相对于载体本身的过量吸附,并且可以经由通过表面处理而导入的基团而与聚合性官能团成键。作为表面处理剂,可列举氨丙基硅烷这样的硅烷偶联剂、钛酸酯类-铝酸酯类偶联剂。

[0105] 如上所述的键合有聚合性官能团的载体例如可通过使下述式(II)所示的化合物与(使用硅胶作为载体的情况下)硅胶进行硅烷偶联而得到。

[0106] [化学式11]

[0107] $W-X-Y-SiR_{3-n}Z_n$ (II)

[0108] (式(II)中,W为乙烯基、烯丙基、异丙烯基、或 ω 位具有双键的碳原子数4~12的烯基,X为酰胺基、酯基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、醚基、亚砷基、砷基、硫醚基、碳原子数6~20的亚芳基或磷酸酯基,Y为碳原子数1~30的亚烷基,R各自独立地为碳原子数1~3的烷基,Z为能够使式(II)中的硅原子与载体之间成键的离去基团。 n 为1~3的整数。)

[0109] 上述式(II)中,W优选为乙烯基、烯丙基、或异丙烯基。

[0110] 上述式(II)中,X为W与末端Z基的连接部的一部分,优选为酰胺基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、酯基、亚苯基。

[0111] 上述式(II)的Y优选为碳原子数1~5的亚烷基,更优选为亚甲基、亚乙基、三亚甲基中的任意基团。

[0112] 上述式(II)的R优选为甲基或乙基。

[0113] 需要说明的是,式(II)中,在X为“酰胺基”的情况下,包括-N-CO-Y和-CO-N-Y的实施方式,在X为“N-烷基酰胺基”的情况下,包括-NR-CO-Y和-CO-NR-Y的实施方式。

[0114] 上述式(II)中,从合成容易的方面和在分离对象为碱性物质的情况下得到良好的峰形状的方面出发,优选W为乙烯基而X为酰胺基或N-烷基酰胺基的实施方式、和W为异丙烯基而X为酰胺基或N-烷基酰胺基的实施方式。

[0115] 需要说明的是,优选以下实施方式:在式(II)的X为“酰胺基”的情况下,在-CO-NH-的结构中Y键合于氮,在为“N-烷基酰胺基”的情况下,在-CO-NR-(R为碳原子数1~3的烷基)的结构中Y键合于氮。

[0116] 上述式(II)中的Z为离去基团,只要是可使式(II)中的硅原子与构成载体的诸如氧这样的原子之间成键即可,可以为任何原子团。为了操作的容易性和反应性的平衡良好,通常使用的离去基团可列举碳原子数1~5的烷氧基,特别优选为甲氧基或乙氧基,可列举卤素(氯、溴或碘)、碳原子数1~20的烷基巯基、诸如二甲基氨基、二乙基氨基、吡咯烷基、咪唑基这样的含氮基团、烯丙基或2-甲基-2-丙烯基。可根据离去基团的种类而调整反应条件(也包括添加催化剂)。

[0117] 上述式(II)所示的化合物可以通过使具有上述式(II)的W所示的结构的化合物、与具有上述式(II)的-Y-SiR_{3-n}Z_n的结构的化合物反应而得到。

[0118] 通过这些化合物彼此间的反应,可生成上述式(II)的“-X-”。

[0119] 作为具有W所示的结构的化合物,可列举:键合于乙烯基的1-位的氢任选被碳原子数为1~12的烷基取代的 α -烷基丙烯酸、或键合于乙烯基的1-位的氢任选被碳原子数为1~12的烷基取代的 α -烷基丙烯酸的卤化物。

[0120] 作为具有上述式(II)的-Y-SiR_{3-n}Z_n的结构的化合物,可列举具有作为上述说明的

X的前体的基团、且具有碳原子数为1~5的烷氧基作为离去基团的硅烷偶联剂。具体而言，可列举氨基烷基烷氧基硅烷、羟基烷基烷氧基硅烷。

[0121] 本发明中使用的键合有聚合性官能团的载体，优选为通过使上述式(II)所示的化合物和硅胶发生硅烷偶联而得到的表面修饰硅胶。

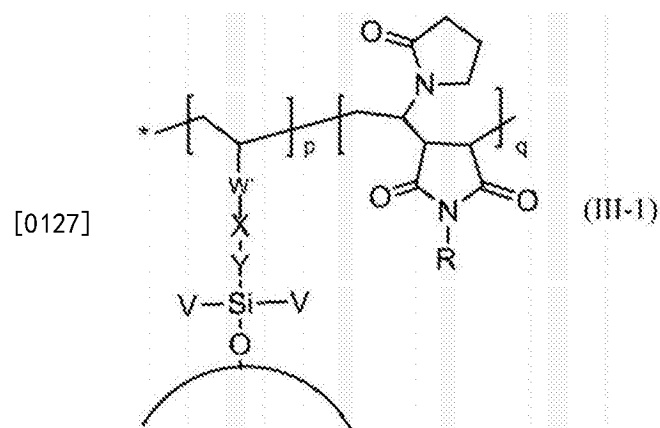
[0122] 也可以与使用上述式(II)所示的化合物不同地，首先将具有上述式(II)的 $-Y-SiR_3-nZ_n$ 的结构化合物(例如氨基烷基烷氧基硅烷、羟基烷基烷氧基硅烷)与作为载体的硅胶进行偶联之后，使用具有W所示的结构化合物(例如键合于乙烯基的碳上的氢任选被烷基取代的 α -烷基丙烯酸)而使反应发生。

[0123] 就本发明的固定相而言，在利用上述说明的(I)的制造方法制造的情况下，是使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、式(I)所示的化合物、及键合有聚合性官能团的载体共聚而得到的固定相。

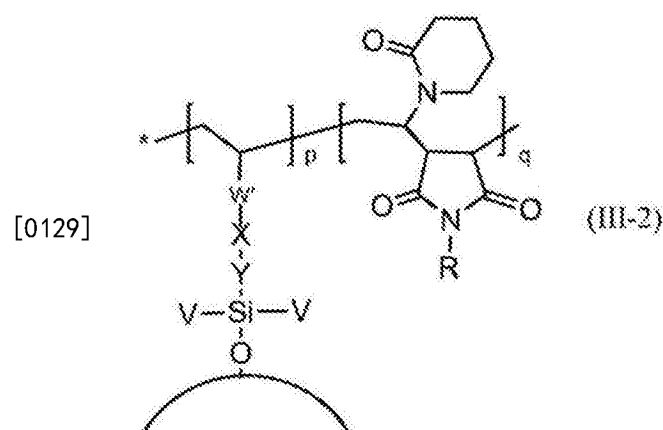
[0124] 作为该共聚的实施方式，可列举针对1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮的乙烯基、式(I)所示的化合物的双键、及聚合性官能团的全部，使它们发生共聚的实施方式，此时的反应条件可以使用公知的方法。

[0125] 可推定，使用上述说明的原料、制造方法而得到的本发明的固定相具有以下结构。

[0126] [化学式12]



[0128] [化学式13]



[0130] (式III-1或III-2中，W'为源自式(II)的W、通过加成聚合而生成的基团，X为酰胺基、酯基、碳原子数1~3的N-烷基酰胺基、醚基、亚砜基、砜基、硫醚基、亚苯基、或磷酸酯基，Y为碳原子数1~30的亚烷基，V为与载体表面键合的醚基、或未反应的上述式(II)中的Z基、

或R基。需要说明的是,在式III-1中,吡咯烷酮骨架和酰亚胺骨架也可以不必交替地存在。在式III-2中,哌啶酮骨架和酰亚胺骨架也可以不必交替地存在。)

[0131] 上述式(III-1)或(III-2)中,作为W'的具体例,可列举单键、任选具有支链的碳原子数1~10的亚烷基。可优选列举单键、亚甲基、亚乙基、三亚甲基。

[0132] 式(III-1)或(III-2)中的X及Y的优选基团可采用与上述式(II)相同的那些。

[0133] 式(III-1)或(III-2)中,p可示例出1以上,q可示例出10~1500左右。p优选为1~10,q优选为15~1100、进一步优选为20~1000。需要说明的是,p、q均为2以上的情况下,在式(III-1)或(III-2)中,可视为包含具有吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架的单元、具有酰亚胺骨架的单元与载体的键合的单元各自连续的嵌段共聚物,但式(III-1)或(III-2)仅显示出了各自的残基的数量,实际上可推定可能为交替性高的无规的共聚物。

[0134] 关于式(III-1)或(III-2)的V,在上述式(II)所示的化合物中,在n=1的情况下,V=R,在n=2的情况下,相对于全部V的数量,R基的比例为50%,未反应的Z基或Z基于反应而在载体表面发生了置换后的结构分别为0~50%及50%~0%,n=3的情况下,未反应的Z基或Z基于反应而在载体表面发生了置换后的结构分别为0~100%及100%~0%。

[0135] 需要说明的是,在上述式(III-1)、(III-2)所示的化合物聚合时,可以使键合有聚合性官能团的载体分散在溶剂和1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮的混合溶液中而进行聚合,也可以在连同少量的溶剂一起使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、聚合引发剂吸收于键合有聚合性官能团的载体之后,除去溶剂而在载体的表面在实质上无溶剂下进行聚合。另外,对于后者的情况而言,尽管会一定程度地残留溶剂,也可以使聚合溶液吸收于载体而在载体的粒子不发生流动的状态进行聚合。

[0136] 下面,针对用于获得本发明的固定相的(2)的制造方法进行说明。

[0137] (2)的制造方法是包括在末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂的存在下进行自由基聚合的工序、和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序的制造方法。

[0138] 作为在(2)的制造方法中使用的末端具有反应性甲硅烷基的链转移剂,可以例示下述式(IV)所示的化合物。本发明中的所述反应性甲硅烷基是指,下述的式(IV)的键合有Z所示那样的离去基团的甲硅烷基,具有相对于包含硅的金属氢氧化物可通过缩合而形成Si-O-M(M为金属原子)形式的键合的性质。在以下其它制法中使用的化合物中也相同。

[0139] [化学式14]

[0140] $R_{3-n}Z_nSi-Y-T$ (IV)

[0141] (式(IV)中,R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,Z为能够使式(IV)中的硅原子与载体之间成键的离去基团。Y为碳原子数1~30的亚烷基,T为链转移性官能团。n为1~3的整数。)

[0142] 式(IV)中,R优选为甲基、乙基、或丙基。Z为离去基团,只要是可使式(IV)中的硅原子与构成硅胶的氧之间成键即可,可以为任何原子团。

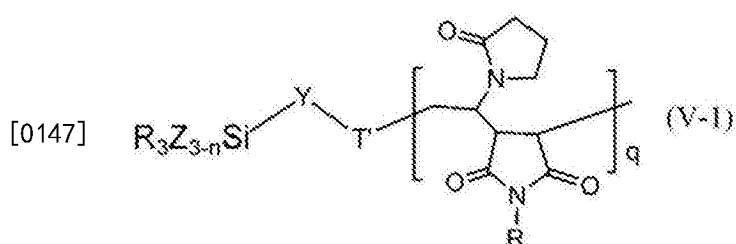
[0143] 由于操作的容易性和反应性的平衡良好,作为离去基团,通常可使用的是碳原子数1~5的烷氧基,其中可以例示甲氧基或乙氧基、卤素(氯、溴或碘)、二甲基氨基、二乙基氨基、吡咯烷基、咪唑基这样的含氮基团,另外也可以使用烯丙基、异丙烯基,可根据离去基团的种类而调整反应条件(也包括添加催化剂)。Y更优选为碳原子数1~10的亚烷基。T为链转移性官能团。链转移性官能团是指,在聚合反应中会活跃地发生伴随生长活性种的移动及

再引发反应的链转移反应的官能团。通过具有链转移性官能团,能够在一定程度上控制生成聚合物的分子量、末端结构。作为链转移性官能团的具体例,优选经卤化的碳原子数1~12的烷基、末端具有硫醇基的碳原子数1~12的烷基或基团内具有二硫基的碳原子数1~12的烷基。

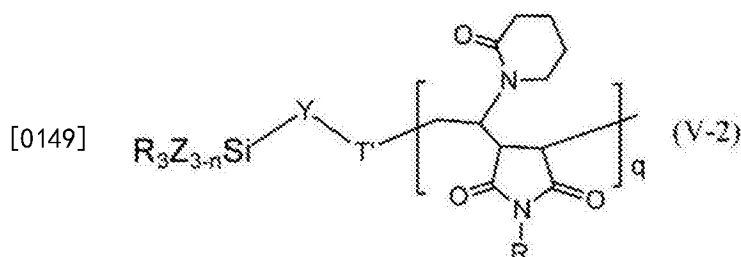
[0144] 上述经卤化的碳原子数1~12的烷基的卤素可列举氯、溴或碘,作为其烷基,可列举碳原子数1~3的烷基。

[0145] 通过在这样的链转移剂的存在下,将少量的自由基发生剂用于催化剂而进行1-乙基-2-吡咯烷酮或1-乙基-2-哌啶酮的自由基聚合,可得到推定为具有下述式(V-1)或(V-2)所示的结构化合物。此时,可根据链转移剂和单体的摩尔比而实现一定程度的分子量的控制。自由基发生剂可以使用在聚合反应中使用的公知的那些,作为其具体例,可列举偶氮化合物、过氧化物。

[0146] [化学式15]



[0148] [化学式16]



[0150] (式V-1或V-2中,T'为源自式(IV)的T、通过链转移反应而生成的基团。Y、R、Z表示与式(IV)中相同的含义,q为2~1500的整数。)

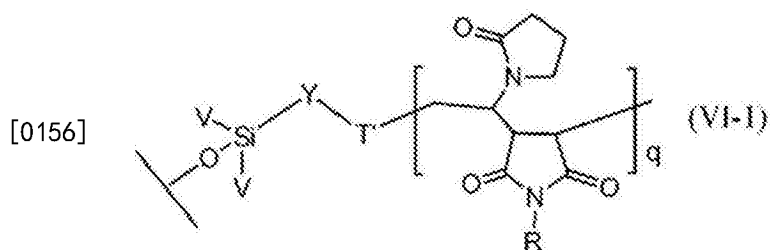
[0151] 式(V-1)或(V-2)中,就T'而言,在T为末端键合有卤素的碳原子数1~12的烷基的情况下,T'为其卤素被取代了的碳原子数1~12的亚烷基残基,在T为末端具有硫醇基的碳原子数1~12的烷基或在基团内具有二硫基的碳原子数1~12的烷基的情况下,T'为硫醚。

[0152] 本发明的固定相的(2)的制造方法中使用的载体,可以使用与在(1)的制造方法中使用的载体相同的那些。

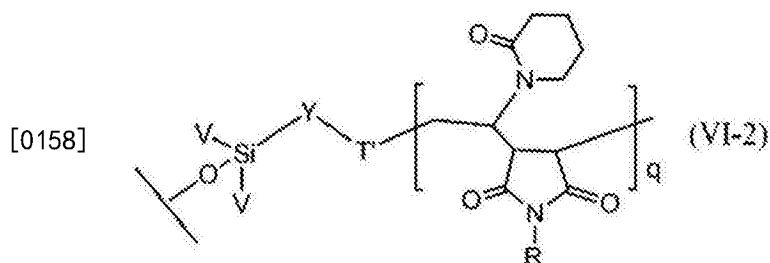
[0153] 关于通过硅烷偶联反应使式(V-1)或(V-2)所示的化合物与载体键合的方法,可以使用公知的硅烷偶联的方法。

[0154] 可推测,式(V-1)或(V-2)所示的化合物与载体键合而得到的固定相具有以下结构。

[0155] [化学式18]



[0157] [化学式19]



[0159] (式VI-1或VI-2中, T' 为源自式IV的T、通过链转移反应而生成的基团。q为2~1500的整数。V为与载体表面键合的醚基、或未反应的上述式(IV)中示出的Z基、或R基。)

[0160] 关于式(VI-1)或(VI-2)的V,在上述式(IV)所示的化合物中,在n=1的情况下,V=R,在n=2的情况下,相对于全部V的数量,R基的比例为50%,未反应的Z基或Z基于反应而在载体表面发生了置换后的结构分别为0~50%及50%~0%,在n=3的情况下,未反应的Z基或Z基于反应而在载体表面发生了置换后的结构分别为0~100%及100%~0%。

[0161] 下面,针对(3)的制造方法进行说明。

[0162] 通过向载体表面导入成为休眠种的稳定的共价键,从表面进行活性自由基聚合,能够在诸如硅胶这样的载体表面导入主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的聚合物。

[0163] 在该方法中,可以向诸如硅胶这样的载体表面上高密度地导入主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的聚合物,可以获得可高度取向的刷状聚合物。

[0164] 关于上述“成为休眠种的稳定的共价键的导入和活性自由基聚合”,将经常使用的例子示于以下(i)~(iii)。

[0165] (i) 在诸如硅胶这样的载体表面导入可利用铜/铁/钨等过渡金属催化剂而活化的碳-卤键,并利用单电子氧化还原机理可逆地进行卤素的夺取和送回,由此使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、和式(I)所示的化合物的聚合以活性的方式进行。通过使用该技术,能够在诸如硅胶这样的载体表面上高密度地导入主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的共聚物。

[0166] (ii) 在诸如硅胶这样的载体表面导入例如烷氧基胺,该烷氧基胺的碳-氧键在发生热解离而生成碳自由基和氮氧自由基(nitroxide)时,1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、和式(I)所示的化合物的聚合得以进行,同时生长碳自由基以可逆的方式迅速地被氮氧自由基封闭(capping)而再次变回休眠种,聚合反应得以控制。通过使用该技术,能够在诸如硅胶这样的载体表面上高密度地导入主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的共聚物。

[0167] (iii) 在向诸如硅胶这样的载体表面导入硫代羰基化合物、碘化合物的情况下,基

于聚合物末端间的自由基种与休眠种的交换反应的可逆的链转移会迅速地发生,由此,全部的共聚物链得到同样的生长机会,分子量的控制成为可能。通过使用该技术,能够在诸如硅胶这样的载体表面上高密度地导入主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的共聚物。

[0168] 在上述(i)~(iii)的任一项中,就载体而言,除了硅胶以外均可以使用与上述(1)、(2)的制造方法所使用的载体相同的那些。

[0169] 下面,针对(4)的制造方法进行说明。

[0170] 该制造方法为包括使具有聚合性双键的硅烷偶联剂、和1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮共聚的工序、和使所得聚合物在载体表面进行硅烷偶联的工序的方法。

[0171] 作为具有聚合性双键的硅烷偶联剂,可列举例如具有上述的式(II)所示的结构化合物。关于上述式(II)中的取代基及其优选例,也可以采用与上述式(II)中说明的相同的条件。

[0172] 在上述(4)的制造方法,关于载体,除了硅胶以外也可以使用与上述(1)、(2)的制造方法所使用的载体相同的那些,关于1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、式(I)所示的化合物,也可以使用与(1)、(2)的制造方法相同的那些。

[0173] 在该制造方法中,通过在共聚物合成时使用适当的链转移剂、上述的活性自由基聚合法,也能够实现分子量的控制。对于通过硅烷偶联反应使得到的共聚物与载体键合的方法,可以使用公知的硅烷偶联的方法。

[0174] 下面,针对(5)的方法进行说明。

[0175] 该制造方法为包括向载体表面导入链转移性官能团,使1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮和式(I)所示的化合物进行自由基聚合的工序的制造方法。

[0176] 如上所述的键合有链转移性官能团的载体,例如可通过使下述式(VII)所示的化合物与(使用硅胶作为载体时的情况下)硅胶进行硅烷偶联而得到。

[0177] [化学式20]

[0178] $T-Y-SiR_{3-n}Z_n$ (VII)

[0179] (式(VII)中,T为链转移性官能团,Y为碳原子数1~30的亚烷基,R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,Z为可使式(VII)中的硅原子与载体之间成键的离去基团。n为1~3的整数。)

[0180] 式(VII)中,R优选为甲基、乙基、或丙基。Z为离去基团,只要是可使式(VII)中的硅原子与(在载体为硅胶的情况下)构成硅胶的氧之间成键的那些即可,可以为任何原子团。即使在载体不是硅胶的情况下,也为可使式(VII)中的硅原子与构成载体的原子之间成键的离去基团。

[0181] 就T而言,可以优选使用与(2)相同的那些,就R、Z而言,可以优选使用与(1)、(2)、(4)所使用的基团相同的那些。

[0182] 本发明中使用的键合有链转移性官能团的载体,优选为通过使上述式(VII)所示的化合物和硅胶发生硅烷偶联而得到的表面修饰硅胶。

[0183] 通过在表面导入有(化学键合有)链转移性官能团的载体的存在下,使用少量的自由基发生剂作为催化剂而进行1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮与式(I)所示的化合物的自由基聚合,能够将共聚物固定化于载体表面。在上述(5)的制造方法中,就载

体而言,除了硅胶以外也可以使用与上述 (1)、(2) 的制造方法所使用的载体相同的那些。另外,就自由基发生剂而言,也可以使用与 (2) 的制造方法中使用的 (2) 的自由基发生剂相同的那些。

[0184] 下面,针对 (6) 的方法进行说明。

[0185] 该制造方法为包括使在起始末端具有反应性甲硅烷基的阴离子引发剂与1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮进行阴离子聚合而得到共聚物的工序、和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序的制造方法。

[0186] 如上所述的在起始末端具有反应性甲硅烷基的阴离子引发剂,例如通过使下述式 (VIII) 所示的化合物与 (在使用硅胶作为载体的情况下) 该硅胶进行硅烷偶联而获得。

[0187] [化学式21]

[0188] $R_{3-n}ZnSi-Y-M$ (VIII)

[0189] (式 (VIII) 中,R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,Z为可使式 (VIII) 中的硅原子与载体之间成键的离去基团,Y为任意氢任选被具有芳环的基团取代的碳原子数1~30的支链或直链状的亚烷基。M为碱金属或碱土金属。n 为1~3的整数。)

[0190] 式 (VIII) 中,R优选为甲基、乙基或丙基,Y、Z可优选列举与上述式 (II) 相同的那些,M可优选列举锂、钠、钾或镁。

[0191] 就Y而言,作为任选取代任意氢的包含芳环的基团,例如可列举具有1 个或2个苯基的碳原子数4~20的烷基,更具体而言,可列举1,1-二苯基己基等。

[0192] 在这样的阴离子引发剂的存在下,可通过公知的方法合成主链的重复单元中包含末端具有反应性甲硅烷基的吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的共聚物。

[0193] 需要说明的是,在由于聚合时的副反应而难以在起始末端直接导入硅烷偶联剂的情况下,也可以通过合成利用保护基保护了起始末端的衍生物,并在聚合后脱保护,定量地转换为硅烷偶联剂而获得。对于将这样得到的共聚物与载体进行硅烷偶联反应而键合的方法,可以使用公知的硅烷偶联的方法。

[0194] 下面,针对 (7) 的方法进行说明。

[0195] 该制造方法为包括下述工序的制造方法:使阴离子引发剂、1-乙烯基-2- 吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、及式 (I) 所示的化合物进行阴离子聚合,使具有反应性甲硅烷基的终止剂发挥作用而得到共聚物的工序;和使所得共聚物在载体表面进行硅烷偶联的工序。在难以向终止末端直接导入硅烷偶联剂的情况下,也可以通过使用被保护基保护了的衍生物并在终止后脱保护,定量地转换为硅烷偶联剂而获得。

[0196] 使用阴离子引发剂的聚合可以采用公知的方法。另外,具有反应性甲硅烷基的终止剂例如可列举下述式 (IX) 所示的化合物。

[0197] [化学式22]

[0198] $R_{3-n}ZnSi-Y-Z'$ (IX)

[0199] (式 (IX) 中,R各自独立地为碳原子数1~5的烷基,Z为可使式 (IX) 中的硅原子与载体之间成键的离去基团,Y为任意氢任选被包含芳环的基团取代的碳原子数1~30的支链或直链状的亚烷基。Z' 为通过生长阴离子末端与终止剂的反应而离去的基团,n为1~3的整数。)

[0200] 作为Z的具体例,可优选列举在上述式 (II) 中作为具体例列举的那些。

[0201] 作为Z'的具体例,可列举:卤素(氯、溴或碘),碳原子数1~5的烷氧基、其中优选为甲氧基或乙氧基、烷基巯基、二甲基氨基、二乙基氨基、吡咯烷基、咪唑基的含氮基团,烯丙基或2-甲基-2-丙烯基。可根据离去基团的种类而调整反应条件(也包括添加催化剂)。

[0202] 就Y而言,作为任选取代任意氢的包含芳环的基团,例如可列举具有1个或2个苯基的碳原子数4~20的烷基,更具体而言,可列举1,1-二苯基己基等。

[0203] 关于使这样得到的共聚物与载体通过硅烷偶联反应而键合的方法,可以使用公知的硅烷偶联的方法。

[0204] 下面,针对(8)的制造方法进行说明。

[0205] 该制造方法包括使包含1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、式(I)所示的化合物、交联剂、及引发剂的组合物和载体混合而进行交联反应的工序。

[0206] 在该制造方法中,通过使该单体与交联剂共聚而制成不溶性的聚合物。具体而言,可以使该载体吸收将1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、式(I)所示的化合物、及相对于上述单体为0.01~1当量的作为交联剂的例如二乙烯基苯、亚甲基双丙烯酰胺、乙二醇二甲基丙烯酸酯等、适量的自由基引发剂、根据需要的溶剂混合而成的物质,并预先设定为由引发剂引发聚合的条件。

[0207] 另外,作为自由基引发剂,可以使用在常规的自由基聚合反应中使用的公知的那些,作为其具体例,可列举偶氮化合物、过氧化物。

[0208] 下面,针对(9)的制造方法进行说明。

[0209] (9)的制造方法是将非专利文献2中记载的方法进行改良而成的制造方法。

[0210] 首先,使载体分散于溶解有由1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮和式(I)所示的化合物共聚而得到的共聚物的溶液,除去溶剂。除去溶剂后,对表面包覆有由1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮和式(I)所示的化合物共聚而得到的共聚物的载体进行加热。作为此时的温度,可列举50℃~180℃左右。通过进行加热,在载体上固定化由1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮和式(I)所示的化合物共聚而得到的共聚物,其后,照射 γ 射线、电子束而使交联反应发生,从而使载体与由1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮和式(I)所示的化合物共聚而得到的共聚物键合。

[0211] 通过上述(1)~(9)的任意方法获得的固定相均具有作为超临界流体色谱用的固定相的优异的性能。

[0212] 经过上述操作而得到的负载于本发明的固定相的载体的主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的聚合物的重均分子量优选为1,000~5,000,000。需要说明的是,例如对于上述式(III-1)、(III-2)或(V-1)、(V-2)所示的结构的情况而言,本发明中的所述共聚物的重均分子量是作为主链的重复单元的 $-(CH_2-CAB)_n-$ 的部位的重均分子量。

[0213] 从共聚物在溶剂中的溶解性、使共聚物负载于载体时粒子的凝聚的防止、在流动相溶剂中的溶解的抑制、与载体形成化学键时的键合量的保持等观点出发,上述重均分子量优选在上述范围。最合适的量根据共聚物的种类而不同。

[0214] 需要说明的是,由于在本发明的固定相的制造方法(1)中,1-乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮及式(I)所示的化合物的聚合、和向硅胶的固定化是同时发生的,因此可以由聚合溶液的上清液估算重均分子量。

[0215] 在制造方法(2)、(4)、(6)、(7)中,在使主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的共聚物与载体键合之前,测定该共聚物的重均分子量。

[0216] 重均分子量可通过以聚苯乙烯为标准物质的凝胶渗透色谱(GPC)方法进行测定。作为GPC溶剂,可根据共聚物的溶解程度而适当使用DMF、NMP、THF。使用DMF、NMP的情况下,为了避免异常的峰形状,也可以添加 10~100mM的氯化锂或溴化锂。

[0217] 在本发明的固定相中的使用制造方法(1)~(7)而得到的那些中,由于主链的重复单元中包含吡咯烷酮骨架或哌啶酮骨架、和酰亚胺骨架的共聚物在载体表面形成了共价键,因此即使将原本可溶解这些共聚物的溶剂或包含该溶剂的混合溶剂用作展开溶剂,也不会发生溶解,不会损害作为固定相的功能。

[0218] 另外,本发明的固定相中的使用制造方法(8)、(9)而得到的那些中,也由于共聚物彼此间在载体上发生了交联,因此即使将原本可溶解这些共聚物的溶剂或包含该溶剂的混合溶剂用作展开溶剂,也不会发生溶解。

[0219] 本发明的固定相的比表面积与所使用的载体的比表面积相当,因此只要选择具有期望的比表面积的载体即可。在载体为例如硅胶的情况下,可以通过选择适当的制品而进行调整。一般而言,在使共聚物负载于载体的实施方式中,在负载的前后,比表面积不会有误差以上的变化,因此固定相的比表面积可视为与所使用的载体的比表面积相同。

[0220] 本发明中可使用的这样的载体的平均粒径通常为0.1~1000 μm 、优选为 1~50 μm ,平均孔径通常为10~10000 $\text{\AA}$ 、优选为50~1000 $\text{\AA}$ 、进一步优选为100~1000 $\text{\AA}$ 。在该范围内,也是微孔越小则表面积越大,因此聚合物结合率变大,但存在对于由作为载体的硅胶引起的吸附的影响也变大(例如碱性试样的保持变大,峰出现拖尾)的倾向,可观察到表面积越小则聚合物结合率越高的倾向。

[0221] 另外,载体的比表面积通常为5~1000 m^2/g 、优选为10~500 m^2/g 。一般而言,在使共聚物负载于载体的情况下,在负载的前后,比表面积不会有误差以上的变化,因此固定相的平均粒径可视为与所使用的载体的平均粒径相同。即,在本发明的固定相为粒子状的情况下,其平均粒径可列举为 0.1 μm ~1000 μm 的实施方式,优选为1~50 μm 。

[0222] 负载于载体的该共聚物的平均厚度(每g载体负载量/载体比表面积)通常优选为0.5~5nm。在上述范围内时,存在峰变得尖锐的倾向,故优选。

[0223] 像这样,在共聚物负载于载体上而成的固定相中,在固定相100质量份中包含的共聚物的质量份的比例(%)优选为1~50质量%、更优选为3~30质量%、进一步优选为5~20质量%。通过设为这样的比例,可以适当地显示出共聚物的吸附能力,并且可以避免白白地增强保持、使峰宽变宽,故优选。

[0224] 需要说明的是,在固定相100质量份中包含的共聚物的质量份的比例(%)可以通过元素分析而测定,基于负载共聚物前的载体的碳含量和得到的固定相的碳含量的测定结果,将除了负载共聚物前的载体中包含的碳以外的碳设为全部来自共聚物、并进一步出于方便而假定聚合物中的单体组成为1:1(摩尔比),从而计算出固定相中的共聚物的质量份的比例。

[0225] 本发明的固定相为粒子状的情况下的平均粒径,如果为球形则指的是其直径,在为不规则粒子的情况下,以与该粒子体积相等的球的直径表示。平均粒径可以通过使用显微镜图像进行测定的装置,例如Malvern公司制 Mastersizer 2000E进行测定。

[0226] 以粒子形式使用本发明的固定相的情况下,优选为长宽比为2以下、更优选为1.5以下的球形粒子状。越接近正球则越优选,因此下限直到1为止,没有特殊限制。

[0227] 如下所述地测定长宽比。将试样以随机散布于观察台上的状态,从正上方利用电子显微镜或光学显微镜观察,在观察到独立的(与其他的任何粒子都不接触或重叠的)初级粒子10个以上的任意画面中,对画面内的各个独立的初级粒子求出长轴及短轴(垂直于长轴的最长部分的长度),将两者的比作为单个粒子的长宽比。将针对画面内全部独立的初级粒子的长宽比进行算术平均而得到的值作为本发明的长宽比。初级粒子是指能够清晰地观察到粒子间的界面的粒子。通常,以避免在试样台上的初级粒子重叠的方式使其适度地分散而进行观察,但难以避免偶然发生的重叠,另外也存在多个初级粒子凝聚而成的块状粒子,但将这些从观察对象中排除。

[0228] 本发明的固定相可以用作高效液相色谱(HPLC)、超临界流体色谱(SFC)、薄层色谱的固定相。

[0229] 如果将本发明的固定相用于SFC用途,则对酸性化合物、碱性化合物具有优异的分

离特性,进一步,对例如稠环芳香族化合物、芳香族化合物的异构体的分离特性也优异。

[0230] 本发明的固定相可以填充于通常的HPLC用的色谱柱中使用。向色谱柱的填充可以使用、淤浆填充法。

[0231] 作为HPLC的洗脱液,可根据作为分离对象的目标物质而无限定地使用公知的那些。

[0232] 另外,本发明的固定相例如可以像日本特开2006-058147号中记载的那样,填充于超临界流体色谱用的公知的色谱柱中使用。

[0233] 在超临界流体色谱法中,将含有超临界流体与溶剂的流体用作流动相。这里的所述超临界流体色谱法,是对以超临界流体为主要流动相的色谱法的一般性名称。上述超临界流体为处于临界压力以上以及临界温度以上的状态(即超临界状态)的物质。作为可用作超临界流体的物质,可列举例如二氧化碳、氨、二氧化硫、卤化氢、一氧化二氮、硫化氢、甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、乙烯、丙烯、卤代烃、水等,但从适当的临界条件、安全性、成本等出发,可列举实质上利用二氧化碳的实施方式。另外,并不需要严格为超临界,也包括亚临界状态下的使用在内,将它们称为“超临界流体色谱法”。另外,从也包括亚临界在内的“超临界”条件逐渐增加流动相中的通常液体的含量、使其实质上转变为液相色谱条件的手法也被进行(也将这样的方法称为集成色谱法)。

[0234] 作为上述溶剂,根据上述目标物质的种类、超临界流体的种类等,可从公知的各种溶剂中选择一种或两种以上。作为上述溶剂,可列举例如甲醇、乙醇、2-丙醇等低级醇、丙酮等酮、乙腈、乙酸乙酯、THF、二氯甲烷、氯仿等。另外,为了在分离碱性、酸性、两性化合物、极性化合物时使峰的形状良好,有时也进一步添加少量的水、酸、胺碱、铵盐等。

[0235] 上述超临界流体色谱法,只要是将含有上述超临界流体与上述溶剂的流体用于流动相的色谱法则没有特别限定。

[0236] 使用本发明的固定相的高效液相色谱法及超临界流体色谱法,可以为分析用,也可以为分取用。

[0237] 分取用的高效液相色谱法及超临界流体色谱法只要是包括下述工序的高效液相色谱法或超临界流体色谱法则没有特别限定,所述工序根据利用色谱柱分离的目标物质,

将通过柱后的流动相利用馏分收集器而分别取得。

[0238] 就填充的色谱柱而言, HPLC用、SFC用均可使用公知尺寸的那些。

[0239] 另外, 流速也分别可以在适当调整后使用, 例如对于内径0.46mm的色谱柱的情况而言, 可列举0.3~10ml/min的实施方式, 可优选列举1~6ml/min 的实施方式。

[0240] 另外, 各个色谱柱的柱温也可列举0~50℃左右的实施方式, 可列举 20~40℃左右。

[0241] 对于SFC用的情况而言, 背压可列举120~180bar左右的实施方式, 可列举130~160bar左右。

[0242] 另外, 本发明的固定相也可以以整块形式使用。在使本发明的固定相为整块的情况下, 可通过使预先被成型为整块状且键合有聚合性官能团的载体、或使成型为整块状的成为载体的原料中键合有聚合性官能团的那些、1- 乙烯基-2-吡咯烷酮或1-乙烯基-2-哌啶酮、及式(I)所示的化合物反应而得到。

[0243] 利用使用了本发明的固定相的高效液相色谱法、超临界流体色谱法, 芳香族或具有杂芳环的化合物的取代位置异构体这样的化合物的分离性能优异。

[0244] 实施例

[0245] 以下, 结合实施例对本发明进行具体说明。但本发明不受限于以下实施例的实施方式。

[0246] <实施例1>

[0247] (硅胶的N-甲基-N-[3-(三甲氧基甲硅烷基) 丙基] 2-丙烯酰胺处理)

[0248] (制备例1)

[0249] 在300mL三颈烧瓶中加入甲苯200mL、三甲氧基[3-(甲基氨基) 丙基] 硅烷3.91g、三乙胺2.74g、4-吡咯烷基吡啶约50mg, 一边搅拌一边向其中滴加丙烯酰氯2.10g、甲苯4mL的混合液。滴加结束后, 约3小时加温至80℃, 得到了漂浮有结晶性产物(三乙胺盐酸盐)的淡褐色液体。

[0250] 另一方面, 在300mL三颈烧瓶中加入于160℃真空干燥后的标称孔径300Å、粒径5μm的硅胶20.60g, 设置搅拌桨。通过玻璃过滤器向其中注入在上述反应中得到的淡褐色液体, 利用50mL的甲苯伴洗残留于玻璃过滤器的固体。对该烧瓶一边搅拌一边在油浴中于90℃加温1小时、于125℃加温 5小时。这期间从侧管蒸馏出约100g的甲苯。将所得硅胶在0.5μm膜滤器上过滤分离, 利用50mL的N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)、100mL的甲醇、50mL 的丙酮洗涤后, 于60℃进行了真空干燥。

[0251] 产量21.74g、重量增加率为6.5%。

[0252] 元素分析值为C:2.65、H:0.55、N:0.44(各%)。

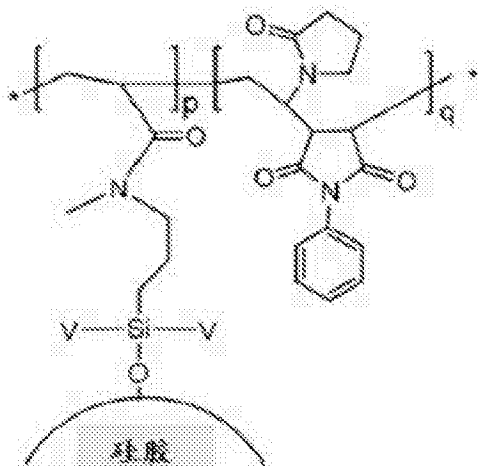
[0253] 1-乙烯基-2-吡咯烷酮(VP)及N-苯基马来酰亚胺与制备例1中得到的硅胶的共聚

[0254] 在氮气氛围中, 向制备例1中得到的硅胶2.15g注入1-乙烯基-2-吡咯烷酮510mg、偶氮二异丁腈20.4mg、N-苯基马来酰亚胺784mg、NMP4.00mL 的混合液经氮气鼓泡的液体, 于65℃加热了2小时、于80℃加热了1小时、于90℃加热了1小时。将所得浆料在玻璃过滤器上用NMP、THF、甲醇各 40mL进行洗涤, 并用丙酮20mL进行冲洗, 利用60℃的真空干燥机进行了干燥。实施例1中得到的粉体为2.475g, 有15%的重量增加。

[0255] 可以推定, 所得共聚物结合硅胶具有以下结构。

[0256] [化学式23]

[0257]



[0258] 另外,将聚合反应后的液相、及洗涤液合并后进行了浓缩、聚合物成分的GPC测定,其结果,其重均分子量为3822。假定为交替共聚物时,可推定1-乙烯基-2-吡咯烷酮和N-苯基马来酰亚胺共由约27个单体形成。键合于硅胶的共聚物的分子量无法测定,但可推定为同等。

[0259] GPC测定在以下条件下进行。

[0260] 色谱柱为东曹(株)制TSKgel α -M+TSKgel guardcolumn- α 、流动相为包含氯化锂100mol/L的DMF、送液为1.0mL/min、温度为40℃、检测使用了差示折射仪检测器,分子量采用聚苯乙烯标准(东曹(株)制)进行了换算。

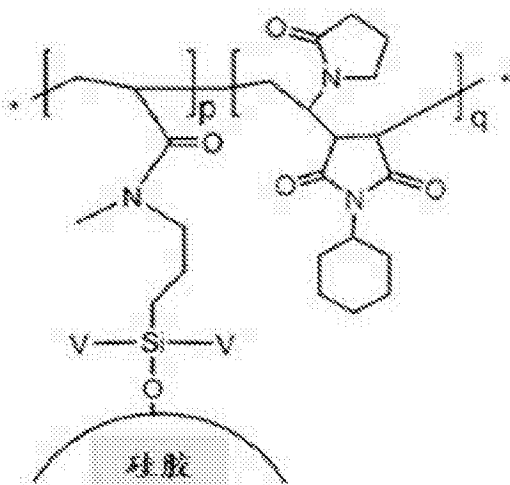
[0261] <实施例2>

[0262] 将1-乙烯基-2-吡咯烷酮201mg、N-环己基马来酰亚胺321mg、偶氮二异丁腈8.1mg溶解于3.00mL的丙酮中,使其吸收于制备例1中制作的硅胶 2.08g之后,减压蒸馏除去丙酮。对其余的粉体,在氮气氛围中、以与实施例1相同的温度/时间进行热处理,同样地进行了洗涤、干燥。所得粉体为 2.48g,有约19%的重量增加。

[0263] 可以推定,所得共聚物结合硅胶具有以下结构。

[0264] [化学式24]

[0265]



[0266] <实施例3>

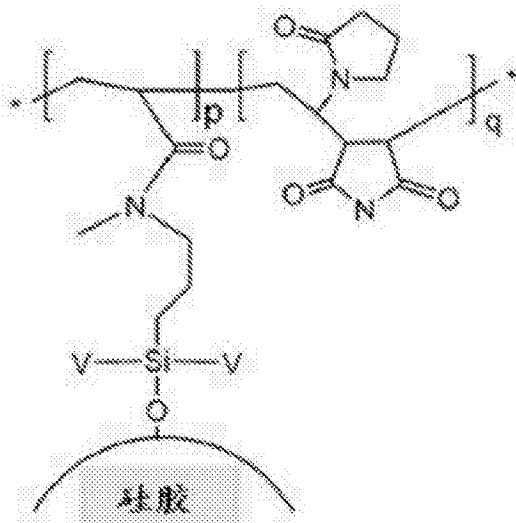
[0267] 在氮气氛围中,向制备例1中制作的硅胶2.15g注入1-乙烯基-2-吡咯烷酮542mg、

偶氮二异丁腈19.7mg、马来酰亚胺484mg、环己酮4.00mL的混合液经氮气鼓泡的液体,于72℃加热了4小时20分钟。向所得浆料(由于是聚合物因此形成为凝胶状)加入NMP10mL而制成溶液之后,利用玻璃过滤器过滤分离硅胶,并用NMP30mL、甲醇20mL、丙酮20mL进行冲洗,利用60℃的真空干燥机进行了干燥。所得粉体为2.62g,有约23%的重量增加。

[0268] 可以推定,所得共聚物结合硅胶具有以下结构。

[0269] [化学式25]

[0270]



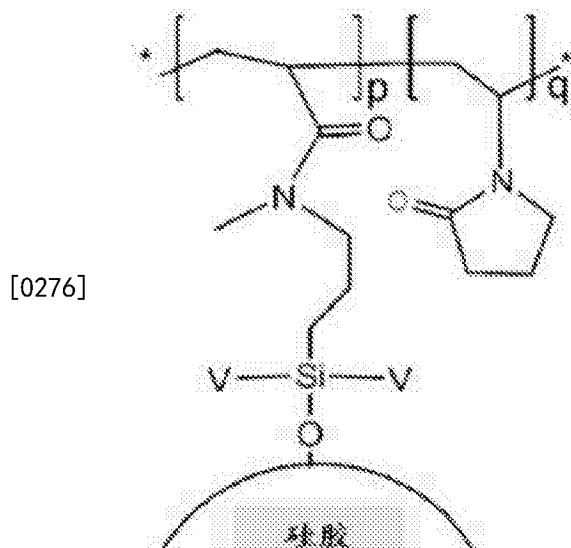
[0271] 另外,将聚合反应后的液相及洗涤液合并并进行了蒸发浓缩、测定了共聚物成分的GPC,其结果,该聚苯乙烯换算重均分子量为191,500。如果假定其为交替共聚物,则可推定两种单体总共为1,840个。键合于硅胶的共聚物的分子量无法测定,但可推定为同等。

[0272] <比较例1>

[0273] 将VP 984mg、NMP4.2mL、偶氮二异丁腈(AIBN)23mg混合,氮气鼓泡后,移液至加入有在制备例1中得到的硅胶2.084g的烧瓶。将液体混合均一,将烧瓶进行氮气置换后,连接旋转蒸发仪,一边旋转一边分别于65℃、80℃、90℃保温2小时。将所得液体转移至5.5μm玻璃过滤器,将NMP50mL、甲醇50mL、丙酮50mL分别分成数次进行洗涤,进行了真空干燥(60℃)。产量为2.262g,相对于在制备例1中得到的硅胶的重量增加为8.5%,硅胶元素分析值为C:7.91、H:1.37、N:1.48(各%)。

[0274] 可以推定,所得聚(1-乙烯基-2-吡咯烷酮)结合硅胶具有以下结构。

[0275] [化学式26]



[0277] 利用使用了乙醇的湿式填充将在实施例1、3及比较例1中得到的固定相填充于4.6mm Φ $\times$ 150mm的不锈钢柱。

[0278] 示出了使用这些色谱柱对咖啡因和3种二甲基黄嘌呤异构体(茶碱、可可碱、副黄嘌呤)利用SFC进行分析的结果(图1:实施例1、图3:实施例3、图5:比较例1)、和对2',3',4'-羟基黄烷酮异构体利用SFC进行分析的结果(图2:实施例1、图4:比较例1)。

[0279] 流动相均使用了CO₂/甲醇9:1(v/v)、流速均采用了4.0mL/min、柱温均采用了40℃、柱背压(BPR)均采用了150bar、检测均使用了UV检测器(254nm)。

[0280] 将图2与图4比较可知,在比较例1的固定相中,2',3',4'-羟基黄烷酮异构体的分离不充分。参照图5(比较例1的固定相)可知,在第2个峰处,茶碱和可可碱重叠。

[0281] 工业实用性

[0282] 本发明的固定相在HPLC用途、SFC用途中使用的情况下具有良好的分离特性。特别是,在作为SFC用的固定相使用的情况下,对于特定的化合物具有良好的分离特性。具体而言,可预期柱级数的提高。从这一点出发,本发明的固定相不仅可期待对迄今为止难以分离的各种物质的新的分离条件的发现、改良,还可期待促进经分离的物质的鉴定、分析的便利性的提高。

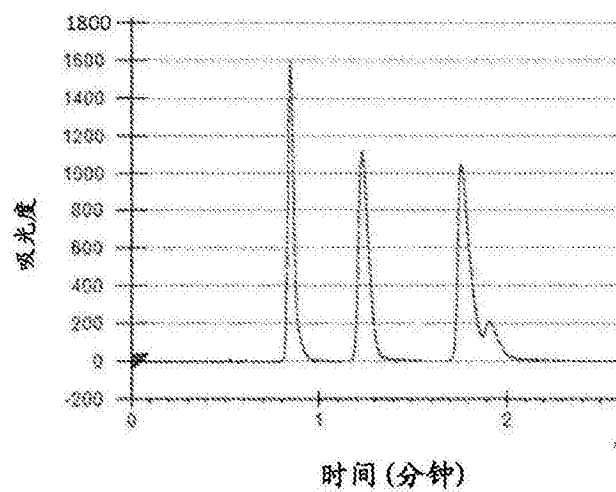


图1

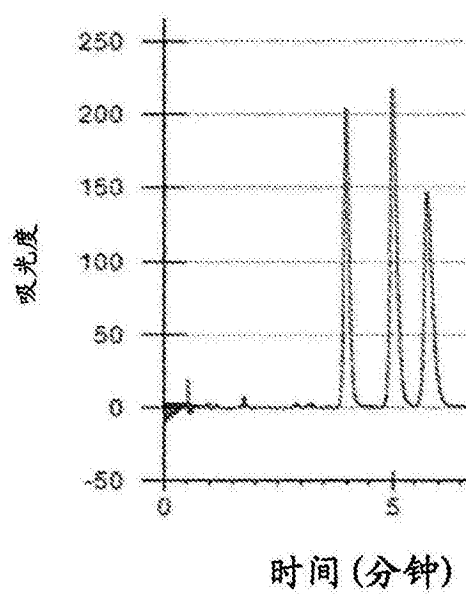


图2

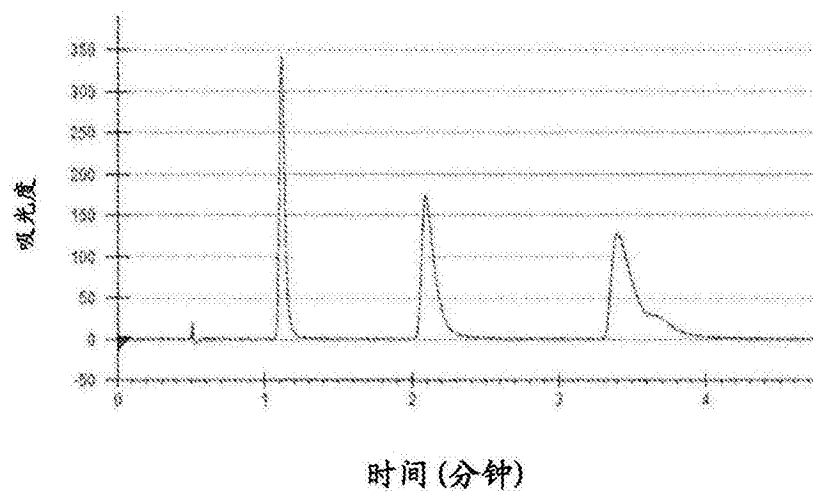


图3

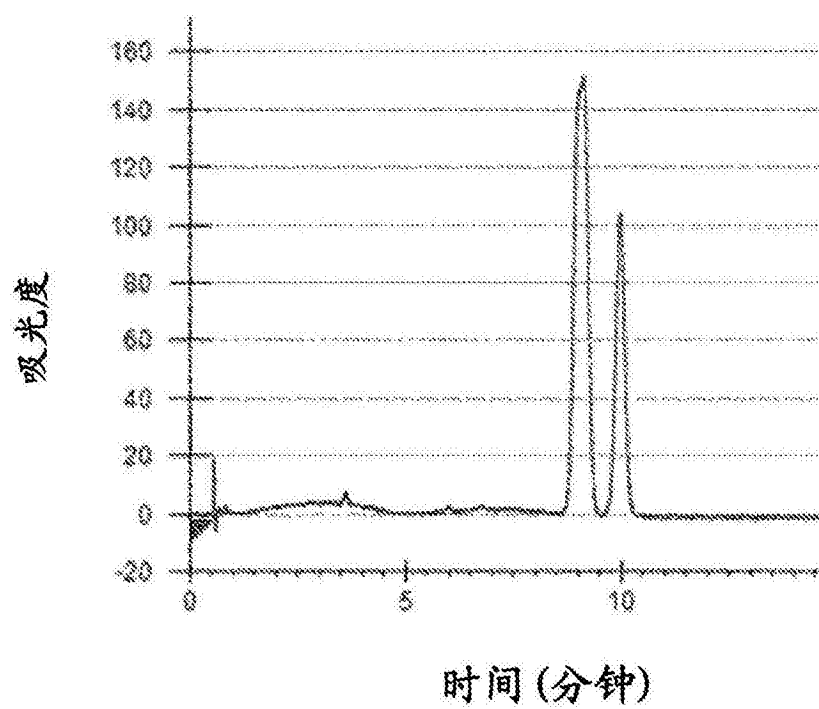


图4

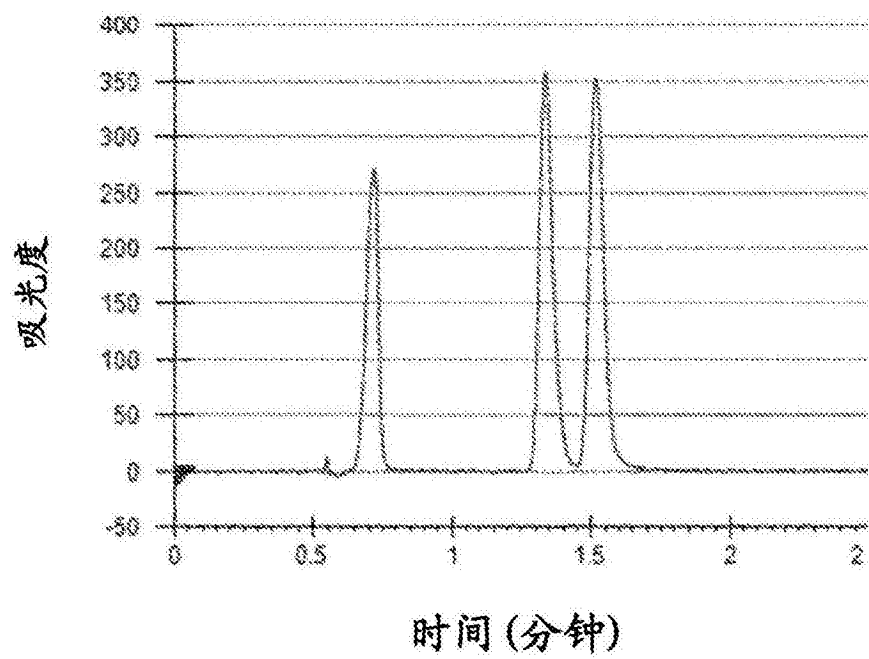


图5