

介孔分子筛 SBA-15 作为高效液相色谱固定相分离维生素 E

周洁 仲海燕 尹良 余晓冬* 陈洪渊

(南京大学化学化工学院, 生命分析化学教育部重点实验室, 南京 210093)

摘要 以三嵌段共聚物 P123 (聚环氧乙烷-聚环氧丙烷-聚环氧乙烷 (PEO-PPO-PEO)) 为模板, 在强酸性 (1.6 mol/L HCl) 条件下, 水热合成了棒状二维六方有序介孔材料 SBA-15。粒径棒长约 1 ~ 1.5 μm , 直径为 400 ~ 500 nm, 平均孔径 5.8 nm, BET 比表面积 799 m^2/g 。并用合成的 SBA-15 作为正相高效液相色谱固定相, 在以正己烷/乙醚 (97: 3, V/V) 为流动相, 流速为 2.0 mL/min 的条件下成功地将 α -、 β -、 γ -、 δ -生育酚, α - δ -生育三烯酚混合物基线分离。

关键词 介孔分子筛; SBA-15; 高效液相色谱; 维生素 E 异构体

1 引言

自 1992 年, Mobil 公司合成出有序介孔硅胶 (Mesoporous silica) MCM-41 和 MCM-48 以来^[1, 2], 有关有序介孔硅胶的研究一直是很活跃的研究领域。近年来, 相继发展出了 SBA-15, FSM-16, APMS, MSU-1 等一系列新型材料。这些介孔硅材料有其优异的特性: 高度有序的孔道结构; 孔径分布较窄, 且孔径尺寸可在较宽范围内变化; 具有大的比表面积, 高的吸附容量。因此, 其在催化^[3]、分离^[4]、传感器^[5]、药物输送^[6]和光学器件^[7]等领域都有较成功的应用。

介孔分子筛 SBA-15 首次被 Zhao 等^[8]用亲水的三嵌段共聚物 P123 作为模板制备出来, 随即成为了介孔硅材料研究的新热点。SBA-15 具有大孔径, 大比表面积, 有极好的均一性和稳定性^[9]。其形状和孔径可以通过嵌段共聚物, 表面活性剂和共溶剂调节^[10], 从而可以很好地控制 SBA-15 上的催化和吸附脱附过程^[11]。Cruden 等^[12]用巯基丙基修饰的 SBA-15 负载钯催化 Heck 反应, 催化反应同时发生在 SBA-15 的表面和孔道内。Qu 等^[13]用 SBA-15 作为药物 captopril 的载体, 发现 SBA-15 的孔径对药物的解吸动力学过程有影响。Han 等^[14]以甲硅烷基化的 SBA-15 和 MCF (Mesocellular siliceous foam) 为对象, 研究了对蛋白质的吸收和释放过程, 发现介孔材料同时起着尺寸排阻和离子交换的作用。Bui 等^[15]利用 SBA-15 对 5 种混合药物 (立痛定, 降固醇酸, 双氯芬酸, 布洛芬和酮洛芬) 的吸附能力进行了研究, 证实吸附来自于药物的功能团与硅羟基的亲水相互作用。Tian 等^[16]将大孔的 SBA-15 作为毛细管电色谱的固定相, 对一些芳香族物质进行了分离, 并以 C_{18} -SBA-15 作为固定相, 分别实现了一些取代苯、苯胺类物质和一些药物的高速分离。Mayani 等^[17]将手性的氨乙醇和其铜复合物固定在 SBA-15 上, 作为手性配位体交换色谱法 (CLEC) 的固定相, 成功实现了外消旋扁桃酸、联萘酚、酒石酸二乙酯的分离。与普通硅胶为载体相比, 介孔材料的多孔性和比表面积在手性分离中起到了很大的作用。Bruzzone 等^[18]利用共沉淀方法将 $-(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ 修饰到 SBA-15 上, 并将其作为离子色谱的固定相分离了 15 种阳离子。

维生素 E (V_E) 是人体所必须的脂溶性维生素。维生素 E 是 8 种天然产物的总称, 包含 4 种生育酚 (α -T, β -T, γ -T, δ -T) 和 4 种生育三烯酚 (α -T₃, β -T₃, γ -T₃, δ -T₃)。这 8 种维生素 E 异构体的结构如图 1。其中 α -生育酚具有最高的生物活性。人体中 90% 的 V_E 为 α -生育酚。最近的研究表明, 其它 V_E 异构体在人体中也有着很重要的作用。例如 γ -生育酚 (γ -T) 具有抗癌的功能^[19], 并能有效地预防由中枢脑动脉阻塞引起的脑梗死^[20]; 生育三烯酚 (T₃) 能够抑制胆固醇合成, 减少血浆胆固醇含量, 以减少心

2011-02-21 手稿; 2011-04-11 接受

本文系国家自然科学基金项目 (No. 20775032), 国家自然科学基金创新研究群体项目 (No. 20821063) 资助

* E-mail: yuxd@nju.edu.cn

脑血管病发的可能性^[19],并且能够抑制肿瘤细胞的增殖^[20]。目前,分离 V_E 异构体的方法主要有薄层色谱,气相色谱和高效液相色谱法^[21]。高效液相色谱法用于分析 V_E ,能极大地简化样品预处理步骤,实现快速分析。反相柱无法分离生育酚和生育三烯酚的 β 和 γ 异构体^[22],正相高效液相色谱法则可以成功分离^[21]。

本研究用 SBA-15 介孔硅材料作为 HPLC 的固定相,成功分离了维生素 E 的 6 种异构体。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

XTRA 型 X 射线衍射仪(瑞士 ARL 公司),S4800 电子显微镜(HITACHI 公司),JEM-2100 透射电子显微镜。P230 II 高效液相色谱仪(依利特公司),液相色谱柱(江苏汉邦科技有限公司装填)。

P123 ($EO_{20}PO_{20}EO_{20}$, $M_w = 5800$), $(\pm) -\alpha$ -Tocopherol (α -T), rac - β -Tocopherol (99.0%) (β -T), (+) γ -Tocopherol (γ -T), δ -Tocopherol (93.1%) (δ -T), D - α -Tocotrienol (α -T₃), D - δ -Tocotrienol (δ -T₃) 均购自 Sigma-Aldrich 公司; TEOS(美国 IL 公司); 正己烷, 异丙醇(色谱纯, 美国 Tedia 公司)。

2.2 介孔分子筛 SBA-15 的制备^[23]

移取 15 mL 水、60 mL 2 mol/L HCl, 并称取 2 g P123 于 100 mL 烧杯中, 在 40 °C 恒温水浴中剧烈搅拌至 P123 完全溶解(约 2 h)。向反应混合物中缓慢滴加 4.25 g TEOS, 于 40 °C 水浴中搅拌 24 h。将反应后的溶液转入聚四氟乙烯衬底的 100 mL 高压反应釜中, 100 °C 晶化 24 h, 冷却, 抽滤, 以二次蒸馏水洗涤, 在红外灯下烘干。置于管式炉中, 前 4 h 程序升温至 500 °C, 并在 500 °C 焙烧 5 h, 以除去模板剂。

2.3 SBA-15 的表征

比表面积和孔径分析在 ASAP 2020 V3.00 H 型吸附仪上进行, 样品在 200 °C 下脱气处理 4 h, 以氮气为吸附质, 做液氮温度(77 K)下 N_2 吸附-脱附等温线。按 BET 公式计算样品的比表面积, 用 BJH 法计算其孔径分布。X 射线粉末衍射(XRD), $CuK\alpha$ 靶, 管电压 40 kV, 管电流 20 mA, 测量范围 $2\theta = 0.5^\circ \sim 5^\circ$ 。并进行扫描电镜和透射电镜分析。

2.4 色谱分离

色谱条件: SBA-15 填充液相色谱柱; 流动相, 正己烷-乙醚; 检测波长, 292 nm; 进样量 20 μ L。 α -T, α -T₃, β -T, γ -T, δ -T 和 δ -T₃ 分别由正己烷配制成 0.1, 0.2, 5.0, 0.2, 1.0 和 1.0 g/L 的储备液, 色谱分离时稀释成浓度分别为 0.05, 0.05, 0.04, 0.04, 0.05 和 0.05 g/L, 备用。

3 结果与讨论

3.1 介孔分子筛 SBA-15 的表征

样品 SBA-15 的 SEM 和 TEM 图见图 2。从低分辨 SEM(图 2a)可见, 制得的 SBA-15 呈棒状, 长约 1 ~ 1.5 μ m; 由高分辨 SEM(图 2b)可以看出截面为六角形, 直径为 400 ~ 500 nm。TEM 图(图 2c 和 2d)表明合成的样品具有规整的六方孔道结构, 六方孔道的孔径约为 6 nm。SBA-15 样品的 XRD 谱图如图 3 所示。所制备样品在 0.8° 附近出现一个强衍射峰, 该峰对应于 SBA-15 的(100)晶面。同时, 在较高角度出现 2 个特征衍射峰, 分别对应于 SBA-15 的(110)和(200)晶面, 表明所合成的样品具有六方孔道结构。

SBA-15 的氮气吸附-脱附实验结果如图 4 所示。由图 4A 可知, 制得的样品呈现典型的 Langmuir IV 型吸附线特征, 说明该样品为介孔有序材料。在 $P/P_0 = 0.6 \sim 0.8$ 时, 吸附支和脱附支具有陡峭的升降, 且有较大的 H1 型滞后环出现, 表明样品具有非常均匀的孔道和较窄的孔径分布。图 4B 中样品的孔径分布曲线证实了这一点。根据 BET 法和 BJH 方程得到 SBA-15 样品的 BET 比表面积为 799 m^2/g , 平均孔径为 5.8 nm, 孔容为 1.15 cm^3/g 。结果表明, 制得的介孔材料 SBA-15 结构有序, 孔径分布窄, 比

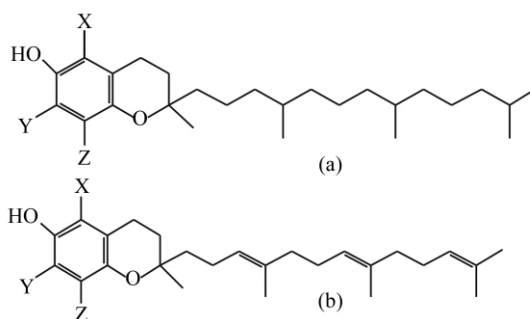


图 1 生育酚(a)和生育三烯酚(b)的化学结构图

Fig. 1 Chemical structure of tocotrienols (a) and tocotrienols (b)

α : X = CH₃, Y = CH₃, Z = H; β : X = CH₃, Y = H, Z = CH₃; γ : X = H, Y = CH₃, Z = CH₃; δ : X = H, Y = H, Z = CH₃

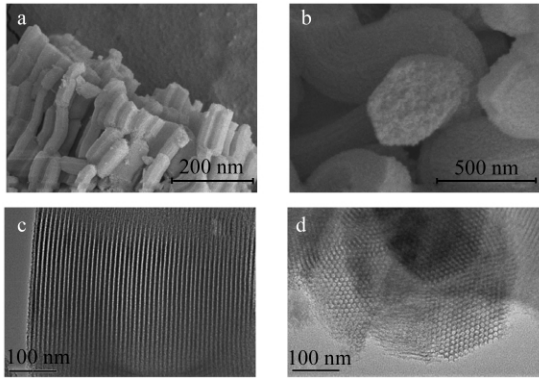


图 2 介孔分子筛 SBA-15 的低分辨 (a) 和高分辨 (b) SEM 图及 TEM 图 (c, d)

Fig. 2 Low- (a) and high-magnification (b) SEM images of stanta barbara amorphou-15 (SBA-15) sample.

(c) (d) TEM image

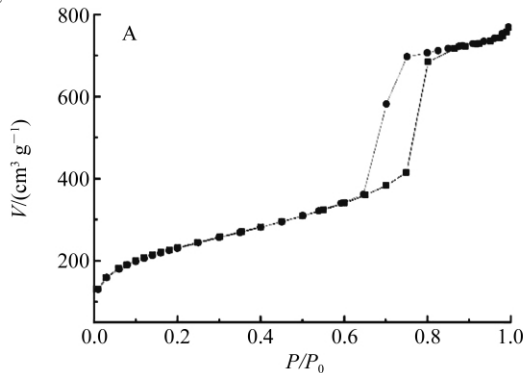


图 4 介孔分子筛 SBA-15 的氮气吸附-脱附曲线 (A) 和孔径分布曲线 (B)

Fig. 4 (A) N₂ adsorption-desorption isotherms of SBA-15 and (B) BJH pore size distribution curve of SBA-15

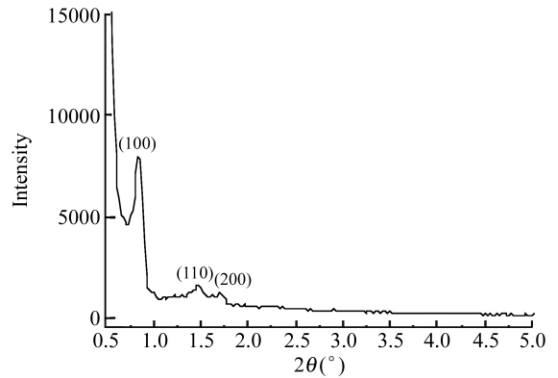
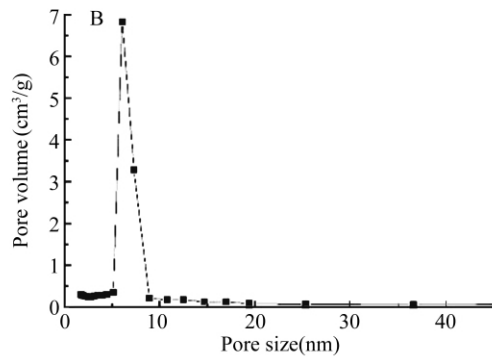


图 3 介孔分子筛 SBA-15 的 XRD 谱图

Fig. 3 X-ray diffraction patterns for SBA-15 sample



表面积大,具有作为 HPLC 固定相的潜力。

3.2 维生素 E 的分离

图 5 是用 SBA-15 填充的色谱柱来分离维生素 E 的色谱图,由图可知,在优化的条件下,即流动相

为正己烷-乙醚 (97: 3, V/V), 流速为 2.0 mL/min, 6 种维生素 E 异构体可以达到基线分离。6 种异构体的出峰顺序为: α -T, α -T₃, β -T, γ -T, δ -T, δ -T₃。其分离机理可解释如下: T₃ 侧链上有双键,易极化,因此与色谱柱作用力强于 T,所以 T 优先于 T₃ 出峰。 α -T, T₃ 的苯环上有 3 个甲基,具有给电子作用,使得苯环上的 -OH 的酸性减弱,与 SBA-15 表面 Si-OH 的作用力减弱,因此保留时间最短,并且由于 3 个甲基的位阻效应,分子体积较大,与 SBA-15 孔道作用较弱,最先流出色谱柱。 β -T, γ -T 的 2 个甲基均有邻位甲基的给电子作用,极性相近,但 β -T 的甲基与取代的环相邻,空间位阻更大一些,因此与固定相之间的吸附作用较弱,先流出。 δ -T, T₃ 苯环上只有间位上 1 个甲基,给电子作用很弱,空间位阻也最小,与 SBA-15 孔道作用最强,最后流出。

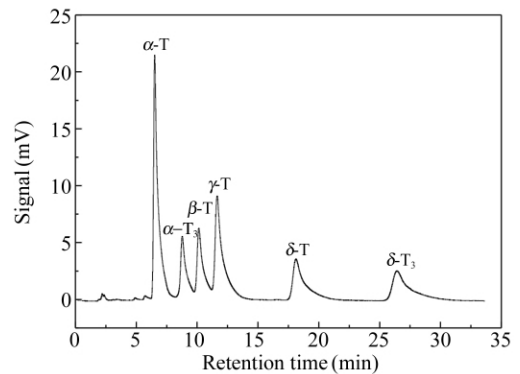


图 5 6 种维生素 E 异构体的色谱图

Fig. 5 Chromatogram of six isomers of vitamin E

色谱条件: 色谱柱: SBA-15 填充液相色谱柱; 流动相: 正己烷/乙醚 (97: 3, V/V); 检测波长: 292 nm; 进样量 20 μ L; 流速: 2.0 mL/min. HPLC conditions: column, column packed by SBA-15; detection, 292 nm; mobile phase, *n*-hexane/ether (97 : 3, V/V); flow-rate: 2.0 mL/min.

References

- 1 Kresge C T , Leonowicz M E , Roth W J , Vartuli J C , Beck J S. *Nature* , **1992** , 359(22) : 710 ~ 712
- 2 Beck J S , Vartuli J C , Roth W J , Leonowicz M E , Kresge C T , Schmitt K D , Chu C T-W , Olson D H , Sheppard E W , McCullen S B , Higgins J B , Schlenker J L. *J. Am. Chem. Soc.* , **1992** , 114(27) : 10843 ~ 10854
- 3 Polshettiwar V , Len C , Fihri A. *Coordination Chemistry Reviews* , **2009** , 253(21-22) : 2599 ~ 2626
- 4 Kumar P , Gulians V V. *Microporous and Mesoporous Materials* , **2010** , 132(1-2) : 1 ~ 14
- 5 Descalzo A B , Martínez-Manez R , Sancenon F , Rurack K. *Angew. Chem. Int. Ed.* , **2006** , 45(36) : 5924 ~ 5948
- 6 Vallet-Regi M , Balas F , Arcos D. *Angew. Chem. Int. Ed.* , **2007** , 46(40) : 7548 ~ 7558
- 7 Jung S B , Ha T J , Park H H , Kim H , Seo W S , Lim Y S. *J. Electroceram.* , **2010** , 25(2 ~ 4) : 140 ~ 144
- 8 Zhao D Y , Feng J L , Huo Q S , Melosh N , Fredrickson G H , Stucky G D. *Science* , **1998** , 279(23) : 548 ~ 552
- 9 Tao C L , Li J J , Liew K Y. *Sci. China Chem.* , **2010** , 53(12) : 2551 ~ 2559
- 10 Zhao D Y , Sun J Y , Li Q Z , Stucky G D. *Chem. Mater.* , **2000** , 12(2) : 275 ~ 279
- 11 Zhao J W , Gao F , Fu Y L , Jin W , Yang P Y , Zhao D Y. *Chem. Commun.* , **2002** , (7) : 752 ~ 753
- 12 Crudden C M , Sateesh M , Lewis R. *J. Am. Chem. Soc.* , **2005** , 127(28) : 10045 ~ 10050
- 13 Qu F Y , Zhu G S , Huang S Y , Li S G , Sun J Y , Zhang D L , Qiu S L. *Microporous Mesoporous Mater.* , **2006** , 92(1-3) : 1 ~ 9
- 14 Han Y J , Stucky G D , Butler A. *J. Am. Chem. Soc.* , **1999** , 121(42) : 9897 ~ 9898
- 15 Bui T X , Choi H. *Journal of Hazardous Materials* . , **2009** , 168(2-3) : 602 ~ 608
- 16 Tian R J , Sun J M , Zhang H , Ye M L , Xie C H , Dong J , Hu J W , Ma D , Bao X H , Zou H F. *Electrophoresis* . , **2006** , 27(4) : 742 ~ 748
- 17 Mayani V J , Abdi S H R , Kureshy R I , Agrawal S , Jasra R V. *J. Chromatogr. A* , **2008** , 1191(1-2) : 223 ~ 230
- 18 Bruzzoniti M C , De Carlo R M , Fiorilli S , Onida B , Sarzanini C. *J. Chromatogr. A* , **2009** , 1216(29) : 5540 ~ 5547
- 19 Campbell S , Stone W , Whaley S , Krishnan K. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* , **2003** , 47(3) : 249 ~ 259
- 20 Mishima K , Tanaka T , Pu F L , Egashira N , Iwasaki K , Hidaka R , Matsunaga K , Takata J , Karube Y , Fujiwara M. *Neurosci. Lett.* **2003** , 337(1) : 56 ~ 60
- 21 Abidi S L. *J. Chromatogr. A* . , **2000** , 881(1-2) : 197 ~ 216
- 22 Kamal-Eldin A , Gorgen G , Pettersson J , Lampi A. *J. Chromatogr. A* , **2000** , 881(1-2) : 217 ~ 227
- 23 Sayari A , Han B H , Yang Y. *J. Am. Chem. Soc.* , **2004** , 126(44) : 14348 ~ 14349

Separation of Vitamin E Isomers Using Mesoporous SBA-15 as Stationary Phase by High Performance Liquid Chromatography

ZHOU Jie , ZHONG Hai-Yan , YIN Liang , YU Xiao-Dong* , CHEN Hong-Yuan

(The Key Lab of Analytical Chemistry for Life Science , Ministry of Education , School of Chemistry and Chemical Engineering , Nanjing University , Nanjing 210093)

Abstract Mesoporous SBA-15 (Stanta Barbara amorphous) silica particles were prepared in strong acidic conditions (1.6 mol/L HCl) with triblock copolymer Pluronic P123 (poly(ethyleneglycol)-block-poly(propyleneglycol)-block-poly(ethyleneglycol)) as templating agent. Characterization result shows it has highly ordered hexagonal mesoporous running along the same direction , extremely narrow pore size distribution (5.8 nm) and high surface areas (799 m²/g) . The SBA-15 particles were successfully applied for the normal phase chromatography separation of six Vitamin E isomers (mobile phase , n-hexane/ether (97/3 , V/V) ; flow-rate , 2.0 mL/min) . The results shows that α - , β - , γ - , δ -tocotrienols and α - , β -tocotrienols are base line separated.

Keywords Mesoporous silica; SBA-15; High performance liquid chromatography; Vitamin E isomers

(Received 21 February 2011; accepted 11 April 2011)