

GC、GC/MS 分析多甘醇的化学组分与结构 Analysis of Constituents and Structures of Policosanol by GC, GC/MS

刘布鸣¹, 苏小川²

LIU Bu-ming¹, SU Xiao-chuan²

(1. 广西中医药研究所, 广西南宁 530022; 2. 广西疾病预防控制中心, 广西南宁 530021)

(1. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Center for Disease Prevention and Control, Nanning, Guangxi, 530021, China)

摘要: 采用气相色谱、气相色谱-质谱联用分析方法对多甘醇的组分和结构进行鉴定, 并用气相色谱峰面积归一化法测定相对含量。结果确定多甘醇为以二十八烷醇为主的 $C_{24} \sim C_{34}$ 的高级脂肪伯醇混合物, 其中 C_{28} 烷醇超过 75%, 总醇为 95%。

关键词: 多甘醇 化学组分 化学结构 GC GC/MS

中图分类号: O623.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2006)S0-0395-02

Abstract: A GC, GC/MS method was established for analysis of the constituents and structures of policosanol. The compounds of long chain fatty alcohols with $C_{24} \sim C_{34}$, including octacosanol octacosyl alcohol were identified, and their relative contents were determined by area normalization respectively. Octacosanol octacosyl alcohol was more than 75%, and the total alcohol was 95%.

Key words: policosanol, constituents, structures, GC, GC/MS

多甘醇是从制糖滤泥中分离制备, 经精制纯化而得的一种高级脂肪伯醇, 为天然混合物^[1]。药理学试验证明多甘醇具有降血脂、降胆固醇的作用。其组分与结构测定未见报道。本文采用气相色谱、气相色谱-质谱联用分析方法对多甘醇样品的组分和结构进行鉴定并用气相色谱峰面积归一化法测定相对含量。结果确定其为以二十八烷醇为主的 $C_{24} \sim C_{34}$ 的高级脂肪伯醇混合物, 其中 C_{28} 烷醇超过 75%, 总醇为 95%。这为新药开发提供化学物质基础。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器: 日本岛津 GC-14B 气相色谱仪, 美国 Agilent 6890-5973GC-MS 联用分析仪。

试剂: N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺

(MSTFA, 硅烷化试剂), 美国 SIGMA 公司出品; C_{24} 、 C_{26} 、 C_{27} 、 C_{28} 、 C_{30} 烷醇对照品, 美国 SIGMA 公司出品; 氯仿、乙醇、丁醇, 均分析纯。

1.2 样品处理

1.2.1 样品精制

取粗样品加入 10 倍量乙醇及活性炭适量, 加热回流 30min, 趁热过滤, 用热乙醇洗涤数次, 合并滤、洗液, 回收乙醇至少量, 冷却至结成类白色固体, 加入 1 倍量丁醇研细, 滤干, 置烘箱于 60~70℃ 干燥至恒重, 即得类白色粉末至类黄白色粉末, 无味。熔点为 83~84℃。

1.2.2 气相色谱供试品制备

分别精密称取 C_{24} 、 C_{26} 、 C_{27} 、 C_{28} 、 C_{30} 烷醇 0.96mg、2.00mg、1.02mg、18.54mg、3.40mg, 用氯仿于 60℃ 水浴加热使其溶解, 定容于 25ml 量瓶中, 配制成混合对照品溶液。精密称取样品 10mg, 用氯仿于 60℃ 水浴加热使其溶解, 定容于 25ml 容量瓶中, 制成供试品溶液。

1.2.3 气相色谱-质谱供试品制备

精密称取样品 10mg, 置具塞试管中, 加入 N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺(MSTFA)200 μ l, 再加入氯仿 2ml, 摇匀, 置 60 $^{\circ}$ C 水浴中加热 20min, 即得。

1.3 气相色谱条件

色谱柱: SE-30 弹性石英毛细管柱, 30m \times 0.25mm, 0.25 μ m; 柱温: 程序升温 250~300 $^{\circ}$ C, 升温速率 10 $^{\circ}$ C/min, 终温 300 $^{\circ}$ C, 保持 15min; 检测器: FID, 温度 300 $^{\circ}$ C; 进样器: 温度 320 $^{\circ}$ C; 载气: N₂, 50ml/min; 分流比: 100:1; 燃烧气: H₂, 50ml/min; 助燃气: 空气, 500ml/min; 进样量: 1 μ l。

1.4 气相色谱-质谱条件

色谱柱: HP-5MS 毛细管色谱柱, 30m \times 0.25mm, 0.25 μ m; 柱温: 程序升温 250~300 $^{\circ}$ C, 起始保持 5min, 升温速率 6 $^{\circ}$ C/min, 终温 300 $^{\circ}$ C, 保持 15min; 进样口温度 300 $^{\circ}$ C; 分流比 20:1; 载气: He, EI 电离方式, 离子源温度 250 $^{\circ}$ C; 电离能量 70eV; 扫描质量范围 35~500u; 进样量: 1 μ l。

2 结果与分析

2.1 气相色谱测试

分别取气相色谱用对照品溶液及供试品溶液, 注入气相色谱仪, 测得样品、混合对照品气相色谱, 用色谱峰面积归一化法计算样品中各组分相对含量。结果 C₂₈ 烷醇超过 75%, 总醇含量为 95%, 详见表 1。

表 1 多甘醇相对百分含量和多甘醇 MSTFA 衍生物的 MS 特征碎片数据

醇分	相对含量 (%)	M ⁺ 峰	基峰 (100%)	特征碎片						
				1	2	3	4	5	6	7
C ₂₄	0.7	426	411	412	395	383	103	83	75	57
C ₂₅	0.1	440	425	426	409	397	103	83	75	57
C ₂₆	4.3	454	439	440	423	411	103	83	75	57
C ₂₇	1.9	468	453	454	437	425	103	83	75	57
C ₂₈	76.6	482	467	468	451	439	103	83	75	57
C ₂₉	0.6	496	481	482	465	453	103	83	75	57
C ₃₀	7.7	510	495	496	479	467	103	83	75	57
C ₃₁	0.3	524	509	510	494	481	103	83	75	57
C ₃₂	2.2	538	523	524	507	495	103	83	75	57
C ₃₄	0.6	566	551	552	535	523	103	83	75	57

2.2 气相色谱-质谱测试

为了检测出分子离子峰, 特别是分子量比较大的组分, 本试验采用 N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺为硅烷化试剂, 多甘醇与 N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺反应, 生成三甲基硅烷衍生物。然后取

衍生化后的供试品注入 GC-MS 仪, 测得 GC-MS 离子流图(图 1)。用气相色谱-质谱, 做各组分的 GC-MS 离子流色谱检测, 测得各质谱图, 对各色谱峰的质谱分子离子峰、基峰、特征碎片峰进行比较分析, 从而鉴定出多甘醇化学成分中主要化学成分与结构见表 1 和图 2。

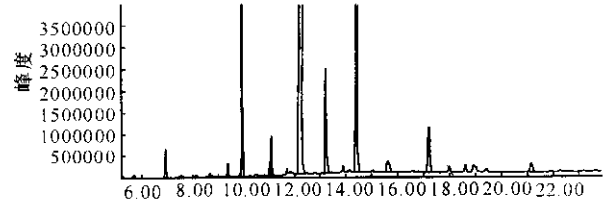


图 1 多甘醇样品硅烷化衍生物 GC-MS 离子流

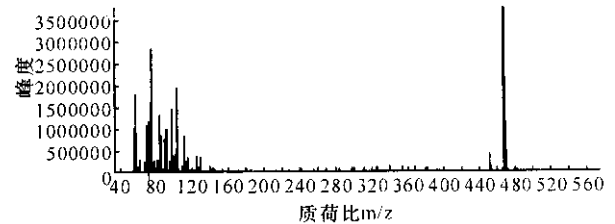


图 2 二十八烷醇硅烷化衍生物质谱图

2.3 质谱裂解规律解析

多甘醇硅烷化衍生物分子离子 M⁺ m/z (104 + -[CH₂]_n -), 分子离子失去一甲基 (M⁺ - CH₃) 得碎片离子 m/z (89 + -[CH₂]_n -) 为基峰 (100%), 基峰离子 -CH₃ 得碎片离子 m/z (73 + -[CH₂]_n -), m/z 57 为 C₄H₉⁺ 离子, m/z (90 + -[CH₂]_n -) 为基峰的同位素离子, 其相对丰度: 100% \times 1.08% \times ¹³C_n + 100% \times 0.016% \times ²H_n \approx 29~40%, 分子离子发生均裂失去一丙基 (M⁺ - C₃H₇) 产生碎片离子 m/z (M⁺ - 43), 各组分的分子离子、裂解特征碎片与多甘醇硅烷化衍生物的结构完全符合。

3 结论

多甘醇为混合物, 组分的结构单元有 -CH₃, -(CH₂)_n-, 伯 -OH, 系 C₂₄~C₃₄ 的饱和脂肪伯醇化合物, 结构通式为 CH₃-(CH₂)_n-CH₂-OH, n=22~32, C₂₈ 烷醇为主要成分含量超过 75%, 总醇含量为 95%。多甘醇的硅烷化衍生物, 用 GC-MS 测得各组分分子离子峰分别为 m/z (104 + -[CH₂]_n -), 与 CH₃-(CH₂)_n-O-Si(CH₃)₃ 的分子量相符, 特征碎片离子裂解途径也证明了其化学结构。

样品中还含有 5%~10% 的非醇类化合物, 通过 GC/GC/MS 对除高级脂肪醇类的其它化合物进

(下转第 398 页)

1.2 仪器

20ml 微型二口圆底烧瓶、回流冷凝管、分液漏斗、锥形瓶, 温度计, 小烧杯, 5ml 量筒, 吸管, AE240 双量程分析天平 (METTLER-TOLEDO), FT-IR Spectrometer (Perkin Elmer), 瑞士布鲁克 AVANCE AV 500MHz 超导核磁共振谱仪, ML-902 定时、恒温磁力搅拌器(上海浦江分析仪器厂生产), MERCK 板。

1.3 药品

芥酸(由四川天宇油脂化学有限公司提供), 异丙醇(AR, 广东光华化学厂有限公司出品), 浓硫酸(AR, 广西师范学院化学试剂厂生产), 液体石蜡(CP, 汕头市光华化学厂生产), 无水硫酸钠(AR, 北京化工厂生产), 乙酸乙酯(AR, 广东汕头市西陇化工厂生产), 石油醚(AR, 广东光华化学厂有限公司出品), 薄层层析用硅胶 H(CP, 青岛海洋化工有限公司出品)。

1.4 合成

在二口烧瓶中装入 3.5667g 芥酸, 再加入 8ml 异丙醇, 摇动, 使芥酸完全溶解, 再滴入 5 滴浓硫酸(约为芥酸质量的 5%) 混合均匀后, 放入搅拌磁子, 装上回流冷凝管, 以液体石蜡为浴液, 加热搅拌反应, 至 TLC 显示原料几乎完全转化时停止^[3](60~70min)。反应混合物分成两相后, 水洗, 用无水硫酸钠干燥^[4], 得固体化合物。

1.5 分离纯化

化合物用硅胶 H 柱层析, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 分段收集, 薄层检查, 相同部分合并、回收溶剂, 分离得无色油状液体 1.5764g, 在薄层色谱中(MERCK 板, 展开剂为 1:20 乙酸乙酯-石油醚)呈单一斑点, R_f 值为 0.73。

2 产品分析

化合物结构用红外光谱 IR、氢核磁共振谱进行确证。

$IR_{\max}^{KBr} \text{ cm}^{-1}$: 2977(=C-H), 2924(C-H), 1735(C=

O), 1656(C=C), 1110(C-O-C), 722(CH_2)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): δ : 5.37(2H, m, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 5.02(1H, m, $-\text{COOCH}-$), 2.27(2H, t, $J=7.57\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$), 2.03(4H, m, $-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_2-$), 1.61(2H, m, $-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}-$), 1.33(30H, m, $-(\text{CH}_2)_n-$), 1.24(6H, d, $J=6.18\text{Hz}$, $-\text{COO}-\text{C}-(\text{CH}_3)_2$), 0.90(3H, t, $J=4.08\text{Hz}$, $\text{CH}_3-\text{C}-$)。

综合以上波谱数据, 鉴定化合物为芥酸异丙酯。

3 结束语

与常量合成法相比较, 本微型合成法具有以下优点。

(1) 设备简单。本方法用定时、恒温磁力搅拌器代替常规搅拌器和电炉, 简化了设备和操作, 安全且节省实验空间。

(2) 试剂用量少、成本低、环境污染小。本方法由于设备的简化和试剂用量的减少, 使得成本大为降低, 并且减少了对环境的污染和实验的危险性。

(3) 操作简便、节省时间。设备的简化也使得本方法的操作变得更为简便、缩短了实验时间。本方法可以在 60~70min 完成合成实验。

综上所述, 本方法是一种充分显示微型化学优势的、符合绿色化学思维 4R 原则的合成方法, 比较适合在有机合成中摸索反应条件时采用。

参考文献:

- [1] 于朝云. 菜籽油中有害物——芥酸的提取[J]. 河北职工医学院学报, 1999, 16(4): 9-10.
- [2] 康显澄. 食品营养与健康[M]. 北京: 轻工业出版社, 1981: 23-24.
- [3] 秦箐, SOREN BROGGER CHRISTENSEN, HASSE BONDE RASMUSSEN. 3,5-二甲基苯甲酸 2-乙酮基苯酚酯的微型有机合成和结构测定[J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2003, 18(1): 23.
- [4] 周宁怀, 王德琳. 微型有机化学实验[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 15-16, 70-78.

(上接第 396 页)

行检测, 结果这些化合物为高级脂肪烃类物质, 是直链烷烃, IR、 $^1\text{HNMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 谱中均未见有除烷烃类外的其它基团信息, 也证实除饱和脂肪伯醇外的其它组分为烷烃类。

参考文献:

- [1] LAGUNA A, MAGRANER J, MARTINEZ J, et al. Policosanol a new cholesterol-lowering Drug isolated from sugar cane (*Saccharum officinarum*, L.) Wax. International Symposium on the Development of Drugs from Natural Sources, Beijing, China, 1993: 19-23.