

脂质立方液晶辅料植烷三醇的合成研究

饶信权, 张锐* (江西中医药大学, 现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

摘要:目的 建立以植醇为原料,低浓度的过氧化氢为氧化剂,甲酸为载氧剂,在无催化剂的条件下,通过环氧化/开环反应合成植烷三醇的方法。方法 采用单因素试验,考察甲酸、过氧化氢与植醇的摩尔比、反应温度和时间对植烷三醇收率的影响,并进行3批次重复性验证。用气-质联用仪、红外光谱仪以及核磁共振波谱仪对植烷三醇的色谱纯度和结构进行了分析。结果 最佳工艺条件确定为:环氧化反应体系最佳条件为 $n(\text{HCOOH})-n(\text{H}_2\text{O}_2)-n(\text{植醇})=5:1.3:1$,温度 $55\text{ }^\circ\text{C}$,时间 2 h ;开环反应体系最佳条件为 pH 值 13 ,温度 $105\text{ }^\circ\text{C}$,时间 0.5 h 。经验证实验,该法植烷三醇合成工艺产率可达 86.6% ,色谱纯度为 94.6% 。结论 所建立的合成方法工艺稳定,质量可控,并且所合成的植烷三醇纯度优于市售产品。

关键词:脂质立方液晶;植烷三醇;过氧化氢;环氧化反应;开环反应

doi:10.11669/cpj.2024.12.004 中图分类号:R914 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)12-1093-07

Synthesis of Phytanetriol as a Lipid Cubic Liquid Crystal Excipient

RAO Xinquan, ZHANG Rui* (Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To synthesize phytanetriol by epoxidation/ring-opening reaction under catalyst-free conditions using phytol as raw material, low concentration of hydrogen peroxide as oxidant, and formic acid as oxygen carrier. **METHODS** The effects of the molar ratios of formic acid and hydrogen peroxide to phytol, reaction temperature, and reaction time on the yield of phytanetriol were investigated using a single-factor test and verified by 3-batch reproducibility. The chromatographic purity and structure of phytanetriol were analyzed by gas-mass spectrometry, infrared spectroscopy, and nuclear magnetic resonance spectrometry. **RESULTS** The optimal conditions for the epoxidation reaction system were $n(\text{HCOOH}) : n(\text{H}_2\text{O}_2) : n(\text{phytol}) = 5 : 1.3 : 1$, temperature $55\text{ }^\circ\text{C}$, and reaction time 2 h . The optimal conditions for the ring-opening reaction system were $\text{pH} = 13$, temperature $105\text{ }^\circ\text{C}$, and reaction time 0.5 h . The phytanetriol synthesis process had a yield of 86.6% in the validated experiments. The chromatographic purity was 94.6% . **CONCLUSION** The synthesis process is stable and can produce phytanetriol with controllable quality and better purity than commercially available products.

KEY WORDS: lipid cubic liquid crystal; phytanetriol; hydrogen peroxide; epoxidation reaction; ring-opening reaction

植烷三醇(3,7,11,15-四甲基-1,2,3-十六烷三醇, phytanetriol),是一种具有护发、保湿、防晒等多种功效的活性物质,是重要的化妆品原料;同时其又是一种双亲脂质材料,可作为脂溶性维生素的增溶剂,被广泛应用于功能饮料和其他保健品中,以增强及稳定维生素的活性^[1]。近年来植烷三醇作为一种新型药物辅料,常被用于制备新型纳米制剂—脂质立方液晶。由于其结构中不含有酯键,在胃肠道中不降解,能够长时间保持立方液晶结构,可使药物

免受降解并有利于药物缓慢长效释放^[2]。因此,它的出现引发了制药行业的关注。

植烷三醇的制备方法较多,都是以植醇或异植醇为原料,将双键氧化为邻二羟基结构而制得。根据所采用的氧化剂的不同,主要可分为叔丁基过氧化氢法^[3]、钨酸氧化法^[4]、四氧化钨氧化法^[5]、过氧化氢氧化法^[6-7]。这些方法存在以下几个问题:其一,钨酸是剧毒品且生产成本低,废水处理必须进行大量严格的操作步骤,否则将带来严重的环境污染。

基金项目:国家自然科学基金项目资助(82360702,81560579,81160523);江西省教育厅科技项目资助(GJJ14609);江西中医药大学校级科技创新团队发展项目资助(CXTD22005,20045252300403)

作者简介:饶信权,男,硕士研究生 研究方向:药物化学 * **通讯作者:**张锐,男,博士,教授 研究方向:药用辅料的设计与评价
Tel:(0791)87118658

其二,有些方法都使用了医药工业中所不希望看到的重金属催化剂,如 Mori 等^[3]报道以 V 或 Mo 衍生物为催化剂,Iwasaki^[6-7]报道以钨酸钠为催化剂,存在催化剂价格昂贵、重金属(毒性)残留等难题。其三,有的方法在后处理过程中还使用了甲苯等二类溶剂,存在溶剂残留的问题^[5]。本研究改良了过氧化氢氧化法,采用价廉易得的甲酸/过氧化氢的无催化体系通过环氧化/开环反应,以植醇为原料制备植烷三醇,并结合单因素试验结果对该合成工艺进行优化,得到最佳合成条件,为制备符合药物辅料要求的植烷三醇及其工业化合成应用和国产替代提供了一定的基础和依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Spectrum 2 傅里叶变换红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司);6890/5973C 型气相色谱-质谱联用仪 HP-5MS 毛细管色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)。(美国 Agilent 公司),配有 MSD ChemStation D. 01. 02. 16 数据处理系统, NIST-20 质谱数据库;LC3000N 高效液相色谱仪(北京创新通恒公司);Alltech 3300 蒸发光散射检测器(美国 Alltech 公司);Avance II 600 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司);KDL 2 分子蒸馏仪(德国 UIC 公司)。

植醇(Lot#: BQC493, 质量分数 98%),上海毕得医药科技有限公司;植烷三醇(Lot#: C11558022 异构体混合物), Macklin 化工有限公司;植烷三醇(Lot#: A1809066, 异构体混合物),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;双氧水(H₂O₂, 分析纯, 质量分数 30%);其他试剂均为市售分析纯。

1.2 方法

根据烯烃先经过环氧化反应再经过开环反应生成反式双羟基化合物的原理,可采用甲酸(HCOOH)为载氧剂,先将双键环氧化生成环氧化物,再用碱水处理,得反式邻二醇。植烷三醇反应式及合成路线见图 1。

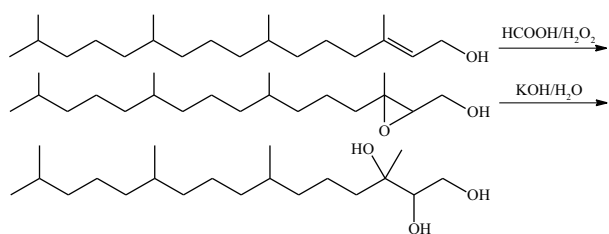


图 1 植烷三醇的合成

Fig. 1 Synthesis of phytanetriol

在装有回流冷凝管、温度计、磁力搅拌子的 100 mL 三口瓶中加入 20.00 g(67.44 mmol)植醇和一定摩尔量甲酸,开动搅拌,油浴锅缓慢升温至一定温度后,缓慢滴加一定摩尔量 30% H₂O₂至滴完,反应一定时间后,反应液溶于 50 mL 乙酸乙酯中,置于 250 mL 分液漏斗中用水(50 mL × 3)洗涤有机层,并用 pH 试纸和淀粉碘化钾试纸监控水层中甲酸与双氧水的残留,以确保除去甲酸与双氧水;有机层经减压旋蒸除去乙酸乙酯。残渣加入 50 mL 一定 pH 值的 KOH 溶液反应一定时间,薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)[展开剂: V_(石油醚)-V_(乙酸乙酯) = 7:3]跟踪直到反应完全,用饱和食盐水洗涤至中性,无水 Na₂SO₄干燥后减压旋蒸除去溶剂得到植烷三醇粗品。分子蒸馏收集 200 ~ 202 °C/3.33 kPa 馏分,得无色透明液体,即为产品植烷三醇,对产品进行气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、傅里叶变换红外光谱仪(fourier transform infrared spectrometer, FT-IR)和核磁共振波谱仪(nuclear magnetic resonance, NMR)分析。

KBr 液膜法:称取适量光谱纯 KBr 固体将其放入研钵中,将 KBr 固体研磨至细小颗粒,然后将细小颗粒用傅立叶红外光谱仪配套的磨具将其压制两片圆形的 KBr 薄片。用微量进样器的针头沾一些合成的植烷三醇(已纯化)在其中一片圆形的 KBr 薄片表面用微量进样器针头轻轻铺开,其上铺上一层植烷三醇液膜。取未铺植烷三醇的圆形的 KBr 薄片先放入傅立叶红外光谱仪中扣除背景值,然后再放入已铺上植烷三醇液膜的圆形的 KBr 薄片,启动仪器进行检测。

2 结果与讨论

2.1 甲酸与植醇投料摩尔比对植烷三醇收率的影响

不同投料摩尔比对植烷三醇收率的影响见表 1。

表 1 甲酸与植醇投料摩尔比对植烷三醇收率的影响

Tab. 1 Effects of mole ratio of formic acid to phytol feeding on the yield of phytanetriol

Yield	n(HCOOH)-n(phytol)				
	2:1	3:1	4:1	5:1	6:1
%	5.7	10.8	29.1	84.0	78.3

由表 1 可知,随着甲酸与植醇的摩尔比升高,植烷三醇合成产率是先升高后趋近稳定。在

甲酸与植醇的摩尔比为 5:1 时,植烷三醇的合成产率最大。其原因可能是当甲酸用量少时,植醇的羟基未能被酯化保护,导致植醇的羟基被氧化为醛或羧酸等副产物,使得植烷三醇的合成产率低,故选择 $n(\text{HCOOH})-n(\text{植醇})=5:1$

表 2 H_2O_2 与植醇投料摩尔比对植烷三醇收率的影响

Tab. 2 Effects of mole ratio of hydrogen peroxide to phytolon feeding on the yield of phytanetriol

Yield	$n(\text{H}_2\text{O}_2)-n(\text{phytol})$						
	1.2:1	1.3:1	1.4:1	1.5:1	1.6:1	1.7:1	1.8:1
%	66.9	81.9	80.7	80.4	79.5	78.0	67.8

由表 2 可知,随着 H_2O_2 与植醇的摩尔比升高,植烷三醇合成产率先升高,然后趋近稳定。当 $n(\text{H}_2\text{O}_2)-n(\text{植醇})=1.3:1$ 时,植烷三醇合成产率最大,此后改变双氧水用量对其合成产率无显著影响。当 H_2O_2 与植醇的摩尔比超过 1.8:1 后,收率明显下降。其原因可能是氧化剂的量越大,氧化的能力越强,随着氧化剂氧化能力的增大,植醇部分被氧化成醛或羧酸,同时其他副反应也相应增多,从而导致植烷三醇的收率降低。故选择 $n(\text{H}_2\text{O}_2)-n(\text{植醇})=1.3:1$ 为宜。

2.3 环氧化反应时间对植烷三醇收率的影响

不同环氧化反应时间对植烷三醇收率的影响见表 3。由表 3 可见,植烷三醇的收率随环氧化反应时间的增加而增大,但在反应 2 h 后收率基本不变,因此,选择反应时间 2 h 较适宜。

表 3 环氧化反应时间对植烷三醇收率的影响

Tab. 3 Effects of epoxidation reaction time on the yield of phytanetriol

Yield	t/h				
	1	1.5	2	2.5	3
%	68.1	69.6	86.4	81.9	83.4

2.4 环氧化反应温度对植烷三醇收率的影响

不同环氧化温度对植烷三醇收率的影响见表 4。由表 4 可见,环氧化反应温度低于 55 °C 时,植烷三醇的收率低,高于 60 °C 后收率也有所下降,其原因可能是低温时 H_2O_2 反应活性低,随着温度的升高反应活性增大,但是反应温度过高, H_2O_2 的分解速度增快,所以温度高于 60 °C 后收率有所下降。故选择 55 °C 为最佳反应温度。

2.5 开环反应 pH 对植烷三醇收率的影响

不同 pH 对植烷三醇收率的影响见表 5。

为宜。

2.2 H_2O_2 与植醇投料摩尔比对植烷三醇收率的影响

不同投料摩尔比对植烷三醇收率的影响见表 2。

表 4 环氧化反应温度对植烷三醇收率的影响

Tab. 4 Effects of epoxidation reaction temperature on the yield of phytanetriol

Yield	$T/^\circ\text{C}$				
	45	50	55	60	65
%	81.3	77.4	86.4	87.0	83.4

由表 5 可见,当 pH 较低时,不容易发生环氧化物的开环反应,导致植烷三醇合成产率不高。但当 pH 值 = 13 时,其合成产率有显著增大。因此,在反应液中加入 KOH 溶液,控制 pH 值约为 13。

表 5 开环反应 pH 对植烷三醇收率的影响

Tab. 5 Effects of pH of ring-opening reaction on the yield of phytanetriol

Yield	pH				
	9	10	11	12	13
%	4.5	15.0	21.6	20.1	78.0

2.6 开环反应温度对植烷三醇收率的影响

不同开环反应温度对植烷三醇收率的影响见表 6。由表 6 所见,当开环反应温度在 65 ~ 95 °C 时,植烷三醇的合成产率变化不大,但当温度达到 105 °C 时,植烷三醇的合成产率增大。其原因可能为,当开环反应温度在 65 ~ 95 °C 时,虽然开环反应可以发生,但是反应不完全,而当温度达到 105 °C 时反应较为彻底,故此温度下植烷三醇合成产率增大。因此,选择以开环反应温度 105 °C 为宜。

表 6 开环反应温度对植烷三醇收率的影响

Tab. 6 Effects of ring-opening reaction temperature on the yield of phytanetriol

Yield	$T/^\circ\text{C}$				
	65	75	85	95	105
%	81.6	84.9	82.8	78.6	89.6

2.7 开环反应时间对植烷三醇收率的影响

不同开环反应时间对植烷三醇收率的影响见表7。由表7可见,开环反应时间对植烷三醇合成产率影响不显著,故选择30 min为开环反应时间。

表7 开环反应时间对植烷三醇收率的影响

Tab.7 Effects of ring-opening reaction time on the yield of phytanetriol

Yield	<i>t</i> /min				
	20	30	40	50	60
%	73.5	78.6	72.0	70.8	74.1

2.8 验证性实验

依据单因素试验考察的结果,将植烷三醇的合成工艺条件确定为环氧化反应 $n(\text{HCOOH})-n(\text{H}_2\text{O}_2)-n(\text{植醇})=5:1.3:1$,反应温度55 °C,反应时间2 h;开环反应pH=13,反应温度105 °C,反应时间0.5 h。具体操作见“1.2”项下。平行合成实验3次得到平均产率为86.6%标准偏差(SD)值为1.54。

2.9 放大实验

为进一步验证工艺的合理性和有效性,按“2.8”项下条件,将所建立的植烷三醇的合成工艺进行了初步放大实验,具体放大实验过程如下:在装有回流冷凝管、温度计、磁力搅拌子的1 L三口瓶中加入227.00 g (765.5 mmol)植醇和176.14 g (3 826.5 mmol)甲酸,开动搅拌,油浴锅缓慢升温至55 °C,用250 mL恒压漏斗滴加130.14 g (994.9 mmol)双氧水,以一滴一滴的速度滴加至完

全,反应液溶于600 mL乙酸乙酯中,置于1 L分液漏斗中用水(600 mL×3)洗涤,并用pH试纸和淀粉碘化钾试纸监控水层中甲酸与双氧水的残留,以确保除去甲酸与双氧水,有机层经减压旋蒸除去乙酸乙酯。有机相残渣加入500 mL pH值=13的KOH溶液105 °C回流0.5 h, TLC [展开剂: $V_{(\text{石油醚})}-V_{(\text{乙酸乙酯})}=7:3$] 监控直到反应完全,用饱和食盐水洗涤至中性,无水 Na_2SO_4 干燥后减压旋蒸除去溶剂得到植烷三醇粗品。分子蒸馏收集200~202 °C/3.33 kPa馏分,得无色透明液体218 g,即为产品植烷三醇,产率86.2%。

2.10 结构表征

2.10.1 GC-MS定性表征产物及测定其色谱纯度 GC-MS:HP-5MS毛细管色谱柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm)。升温程序:起始温度200 °C,保持3 min,以10 °C·min⁻¹速率升至250 °C,5 min;进样口温度250 °C,进样量1 μL,分流比20:1;载气:高纯氦气,流速1 mL·min⁻¹;质谱接口温度280 °C;电子轰击(EI)离子源;电子能量70 eV;离子源温度230 °C;四极杆温度150 °C;扫描范围: m/z 10~500全扫描,溶剂延时3 min。检测到一保留时间为8.715 min的单峰,色谱峰纯度为94.6%(面积归一化法计算含量),采用NIST20质谱数据库进行谱图匹配,确定为植烷三醇,匹配度91。质谱图见图2,可见 m/z (%)分别为:269.3(29%),125.1(48%),111(73%),105.1(96%),97.1(84%),85.1(41%),83.1(87%),71.1(97%),69.1(90%),57.1(90%),55.1(57%),43.1(100%),41.1(32%)。

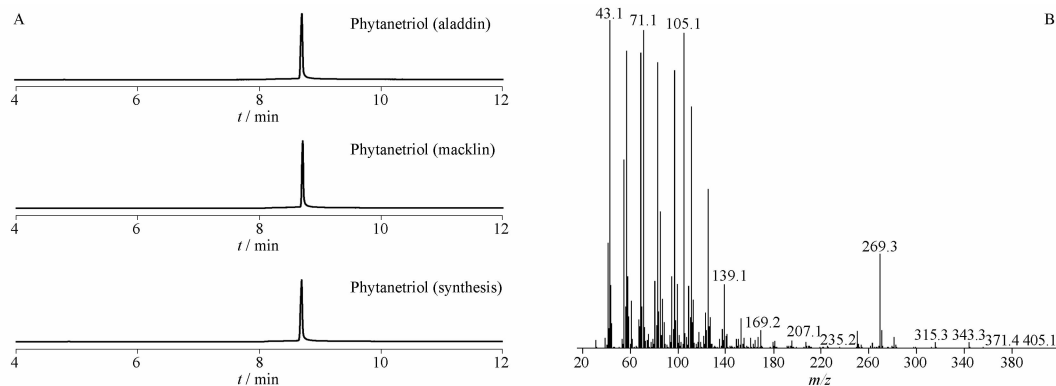


图2 植烷三醇的气相色谱/质谱(GC/MS)总离子流图(A)和质谱碎片图(B)

Fig.2 GC/MS total ion flow diagram(A) and mass spectral fragmentation diagram(B) of phytanetriol

2.10.2 产物的红外光谱表征 产物的红外光谱图(KBr液膜法)见图3。波数:3 391(s, $\nu_{\text{O-H}}$),

2 953(s, $\nu_{\text{C-H}}$), 2 926(s, $\nu_{\text{C-H}}$), 2 869(s, $\nu_{\text{C-H}}$), 1 463(s, $\nu_{\text{C-H}}$), 1 377(s, $\nu_{\text{C-H}}$), 1 090(m, $\nu_{\text{C-O}}$),

1 090(m, ν_{C-O}), 与文献[8-9]数据一致。

2.10.3 产物的核磁共振谱表征 称取适量合成的植烷三醇(已纯化)于核磁管中,加入氘代氯仿配置成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度溶液用核磁共振波谱仪进行氢谱和碳谱的扫描。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz,

CDCl_3), 化学位移 δ : 0.86 ~ 0.91 (m, 12H), 1.00 ~ 1.59 (m, 24H), 2.54 ~ 2.61 (m, 3H) 3.50(d, 1H), 3.79(d, 2H)。产物 $^1\text{H-NMR}$ 谱图(图4), 烯氢峰消失。谱图数据与文献[10]报道一致。

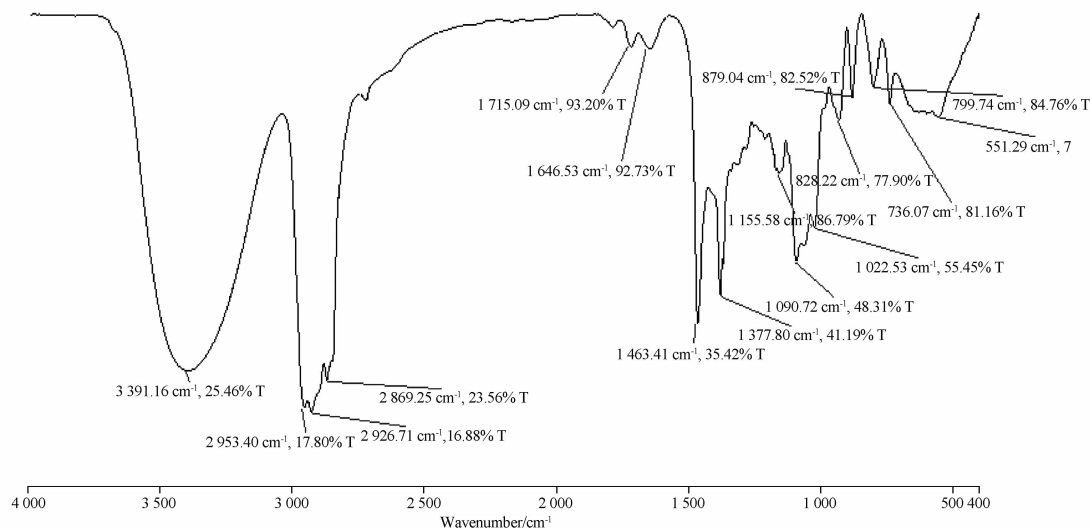


图3 植烷三醇的红外光谱图

Fig. 3 Infrared spectrum of phytanetriol

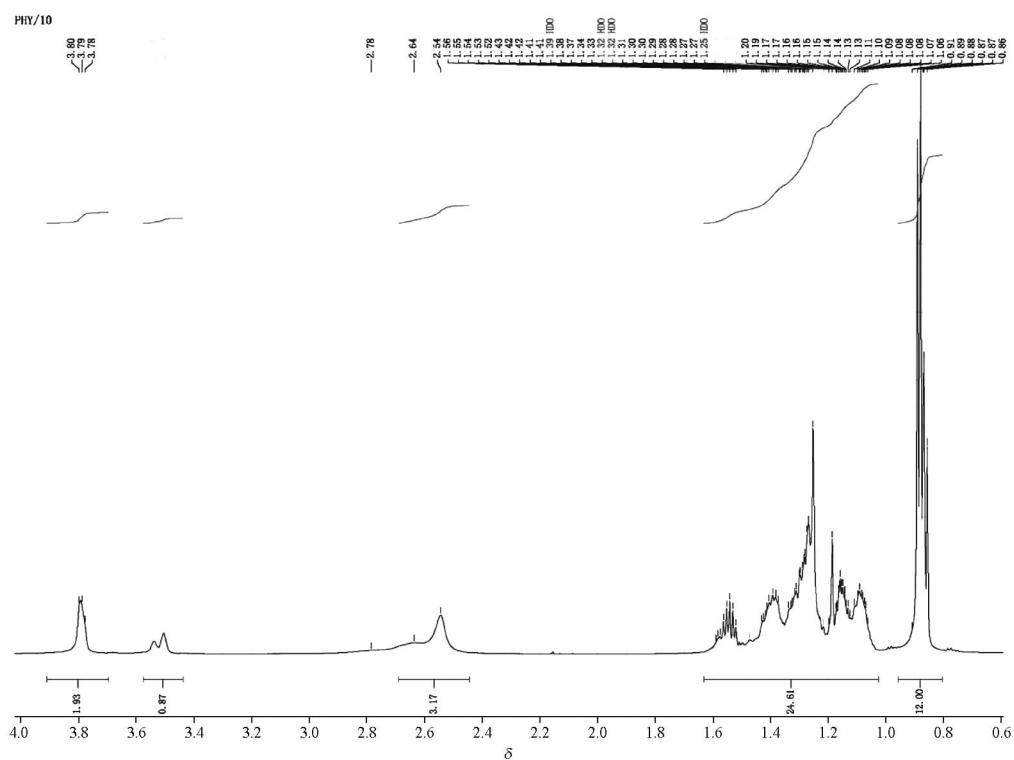


图4 植烷三醇的核磁共振氢谱图

Fig. 4 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of phytanetriol

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 76.87, 76.20, 75.30, 74.77, 74.75, 74.63, 74.61, 63.44, 63.27,

39.74, 39.37, 38.46, 37.77, 37.68, 37.57, 37.44, 37.40, 37.29, 32.81, 32.79, 27.99, 24.82, 24.80,

24.19, 23.57, 22.73, 22.64, 22.31, 21.05, 20.99, 19.75, 19.72, 19.68, 19.66, 19.62, 19.59。产物的

^{13}C -NMR谱图(图5)与原料植醇相比,烯碳峰消失;谱图数据与文献[10]报道一致。

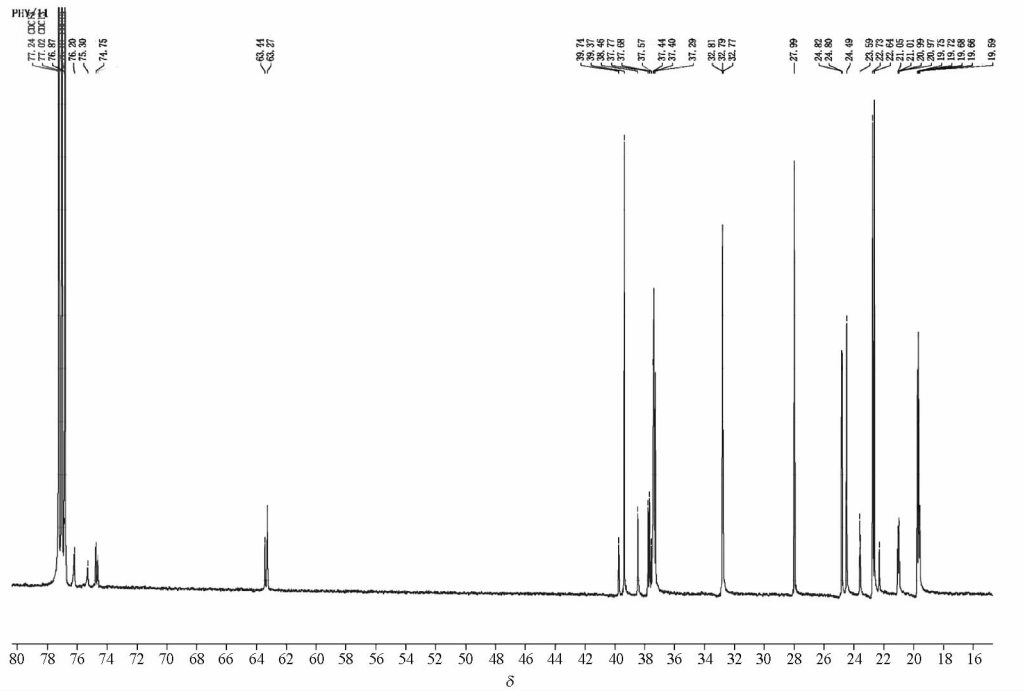


图5 植烷三醇的核磁共振碳谱图

Fig. 5 ^{13}C -NMR spectrum of phytanetriol

2.11 与市售产品对比实验

GC/MS 不能对植烷三醇中的异构体进行有效的分离。为了有效的对比所合成植烷三醇与市售产品的纯度差异,本研究建立了新的 HPLC/ELSD 的分离方法,色谱条件:色谱柱:Alltech C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm);流动相:90% 乙腈-水等度洗脱;柱

温:30 $^{\circ}\text{C}$;样品浓度 1 $\text{mg} \cdot \text{min}^{-1}$;进样量:10 μL ;ELSD 漂移管温度为 60 $^{\circ}\text{C}$;氮气流速 1.6 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。色谱图见图 6,由图 6 可见,本研究所合成的植烷三醇为单一色谱峰,而市售产品呈现明显的双峰(标称为异构体混合物),说明本工艺合成的植烷三醇纯度较高。

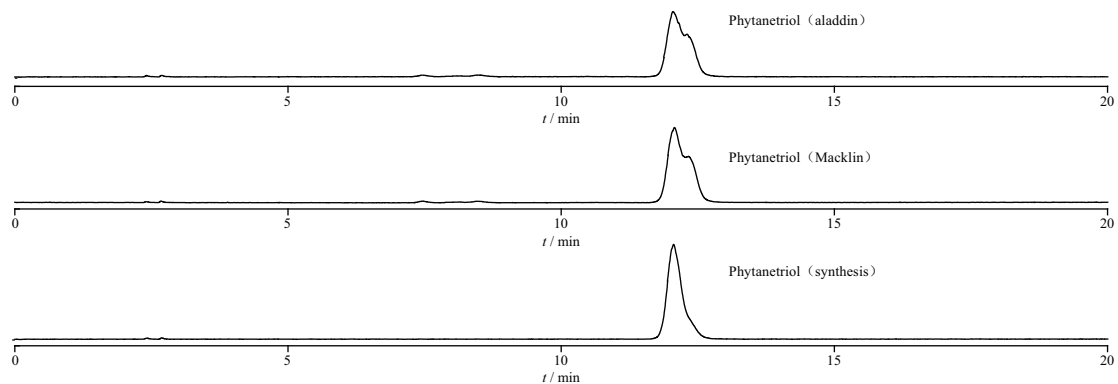


图6 不同来源的植烷三醇液相色谱/蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)对比图

Fig. 6 HPLC-ELSD comparison of phytanetriol from different sources

3 讨论

本研究以植醇为原料,采用价廉易得的低浓度

过氧化氢作为氧化剂,甲酸作为载氧剂,通过环氧化/开环反应合成了植烷三醇,通过 GC-MS、FT-IR

和 NMR 确定了植烷三醇的色谱纯度和结构。排除了使用高质量分数过氧化氢在工业化生产中的不安全因素,反应过程不使用任何催化剂,实现合成工艺的绿色化,有效地降低了生产成本。同时,氧化剂反应生成水,对环境污染较小。因此,本工艺具有放大经济性,对环境友好,实施条件简单,无须高压高温装置,便于进行规模化连续生产。为此后合成植烷三醇的工业化应用实现进口替代^[11-12]提供了一定的基础和依据。

REFERENCES

- [1] KIM J H. Moisturizing cosmetic composition and its manufacturing method: Korea, KR172329[P]. 2016-12-16.
- [2] ABOUREHAB M A S, ANSARI M J, SINGH A, *et al.* Cubosomes as an emerging platform for drug delivery: a review of the state of the art[J]. *J Mater Chem B*, 2022, 10(15): 2781-2819.
- [3] MORI T, SHIONO M, FUJITA Y, *et al.* Phytanetriol: Japan, JP198577927[P]. 1985-04-11.
- [4] MUELLER T, PAUST J. One-step process for the preparation of 3,7,11,15-tetramethyl-1,2,3-trihydroxyhexadecane: Germany, DE19604723[P]. 1996-02-09.
- [5] CHEN P, LU C, YE W. Process for one-step synthesis of 3,7,11,15-tetramethylhexadecane-1,2,3-triol: China, CN141433[P]. 2003-07-03.
- [6] IWASAKI H. Preparation of phytanetriol: Japan, JP317719[P]. 2000-10-18.
- [7] IWASAKI H. Preparation of phytanetriol from 1,2-epoxy-3,7,11,15-tetramethylhexadecan-3-ol: Japan, JP324557[P]. 2001-10-23.
- [8] MISIUNAS A, TALAİKYTE Z, NAIURA G, *et al.* Raman and infrared spectroscopic study of phytanetriol and phytanetriol-water cubic phases[J]. *Biologija*, 2004(4): 26-29.
- [9] MISIUNAS A, NIAURA G, TALAİKYTE Z, *et al.* Infrared and Raman bands of phytanetriol as markers of hydrogen bonding and interchain interaction[J]. *Spectrochim Acta A*, 2005, 62(4/5): 945-957.
- [10] VALLOORAN J J, DUSS M, ANSORGE P, *et al.* Stereochemical purity can induce a new crystalline mesophase in phytanetriol lipids[J]. *Langmuir*, 2020, 36(31): 9132-9141.
- [11] ZHANG Z G. *Synthesis and Design of Fine Organic* (精细有机合成与设计)[M]. Vol 2. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 178.
- [12] SHAN Q Q, JIANG X J, GUI S Y. Preparation and *in vitro* evaluation of triptolide-loaded cubic liquid crystals[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2019, 54(9): 726-733.

(收稿日期:2023-01-12)