

10种脂肪酰乙醇胺制备工艺优化及其结构表征

李孟昱^{1,2}, 陈伟珠^{2,3}, 晋文慧^{2,3}, 方华^{2,3}, 洪专^{2,3}, 张玉苍¹

(1. 集美大学海洋食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 自然资源部第三海洋研究所海洋生物资源开发利用工程技术创新中心, 福建 厦门 361005; 3. 福建省高职院校海洋生物应用技术协同创新中心, 福建 厦门 361005)

摘要: 为了优化脂肪酰乙醇胺的制备工艺, 以油酸甲酯和乙醇胺为原料, 采用无溶剂法制备油酰乙醇胺, 采用单因素实验优化了反应条件。然后以10种脂肪酰甲酯为原料, 考察了该反应方法的普适性, 并对制备得到的10种脂肪酰乙醇胺的结构进行了表征。结果表明: 制备油酰乙醇胺的最佳工艺条件为无溶剂、油酸甲酯与乙醇胺物质的量比1:5、反应温度100℃、反应时间15 h, 在此条件下油酰乙醇胺产率为76.52%; 在最佳工艺条件下考察了反应底物的普适性, 得到10种脂肪酰乙醇胺目标化合物, 其产率在53%~87%之间, 并通过核磁氢谱、碳谱以及高分辨质谱确证了目标化合物的结构。该方法反应条件绿色无污染, 分离纯化成本低, 操作简易, 且可以获得克级以上的高纯度脂肪酰乙醇胺, 可为以后开展脂肪酰乙醇胺生物活性研究提供足够的样品。

关键词: 脂肪酰乙醇胺; 制备; 结构表征

中图分类号: TQ226.3; O623.61 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2022)11-0051-06

Process optimization of preparation of 10 fatty acid ethanolamines and its structural characterization

LI Mengyu^{1,2}, CHEN Weizhu^{2,3}, JIN Wenhui^{2,3}, FANG Hua^{2,3},
HONG Zhuan^{2,3}, ZHANG Yucang¹

(1. College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian, China; 2. Technical Innovation Center for Utilization of Marine Biological Resources, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, Fujian, China; 3. Collaborative Innovation Center for Marine Biotechnology, Higher Vocational College, Fujian Province, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: In order to optimize the process of preparation of fatty acid ethanolamine, with methyl oleate and ethanolamine as raw materials, *n*-oleoyl ethanolamine was prepared by solvent free method, and the reaction conditions were optimized by single factor experiment. Then 10 fatty acid methyl esters were used as raw materials, the universality of the method was investigated, and the structures of 10 fatty acid ethanolamines were characterized. The results showed that the optimal process conditions of preparation of *n*-oleoyl ethanolamine were obtained as follows: solvent free, molar ratio of methyl oleate to ethanolamine 1:5, reaction temperature 100℃ and reaction time 15 h. Under these conditions, the yield of *n*-oleoyl ethanolamine was 76.52%. Under the optimal conditions, the universality of the substrate was investigated, and the yields of the 10 fatty acid ethanolamines (target compounds) were 53%–87%. The

structures of the target compounds were further confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and high resolution mass spectrometry. The method has the advantages of no pollution, low cost, simple operation, and can obtain high-purity fatty acid ethanolamine above gram level, which can provide sufficient samples for the biological

收稿日期: 2021-08-13; 修回日期: 2022-05-09

基金项目: 福建省自然科学基金(2018J01132); 国家重点技术研发计划(2019N0032)

作者简介: 李孟昱(1998), 女, 在读硕士, 研究方向为脂质化学(E-mail) 756485364@qq.com。

通信作者: 张玉苍, 教授(E-mail) yczhang@jmu.edu.cn;

洪专, 教授级高工(E-mail) hzh@tio.org.cn。

activity research of fatty acid ethanolamine in the future.

Key words: fatty acid ethanolamine; preparation; structural characterization

自然界脂肪酸的化学结构丰富多样,主要包括 $C_{14} \sim C_{22}$ 的饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸,多不饱和脂肪酸依照第一个双键距离甲基端碳原子数不同分为 $\omega - 3$ 系、 $\omega - 6$ 系、 $\omega - 7$ 系和 $\omega - 9$ 系^[1]。由于脂肪酸具有多种生物学活性^[2-4],其衍生物的合成和生物活性研究也受到许多科学人员的青睐。

脂肪酸衍生物是一类脂代谢的产物,可能会介导一些特定的受体或激活特定的信号通路,从而显示出抗炎、抗肿瘤、降血脂等生物活性^[5]。英国最大的制药企业葛兰素史克公司(NYSE:GSK)生产的Lovaza($\omega - 3$ 脂肪酸乙酯)是一种鱼油脂类调节剂,该药品2005年由美国FDA批准用于饮食辅助药物以降低成年患者的甘油三酯水平^[6]。2012年,FDA又批准了市场上的第二个多不饱和脂肪酸酯处方药Vascepa(EPA乙酯),其是一种纯化的鱼油制剂,含有不低于96%的EPA,主要用于治疗高甘油三酯血症^[7]。内源性大麻素,如花生四烯酰乙醇胺(AEA)、二十碳五烯酰乙醇胺(EPEA)和二十二碳六烯酰乙醇胺(DHEA),主要通过激活大麻素受体1(CB1)和大麻素受体2(CB2)发挥重要的生理功能作用^[8]。在TNF- α 刺激的类风湿关节炎滑膜成纤维细胞内,AEA可减少p38和细胞外信号调控激酶(ERK)1/2的磷酸化,减少IL-6和IL-8分泌,另一方面二十二碳五烯酸乙醇胺(DPEA)在LPS刺激的RAW 264.7巨噬细胞中表现出显著的抗炎活性,其可与核受体(Nur77-LBD)结合并以Nur77依赖的方式通过NF- κ B信号通路发挥抗炎作用^[9-10]。

哺乳动物组织中存在的生物酶可以直接催化脂肪酸与乙醇胺或氨生成相应的脂肪酰胺,但是从动物组织或器官中提取和纯化脂肪酰胺,其技术难度大,分离成本高,经济效益差。目前,脂肪酰胺的制备方法主要是两步法,即藻油或鱼油在NaOH乙醇水溶液中发生皂化反应,得到游离脂肪酸,然后再与氨基发生酰化反应,得到脂肪酰胺。

本文突破了常规两步法的脂肪酰乙醇胺制备方法,从化学绿色合成方法出发,以油酸甲酯与乙醇胺为起始原料在无溶剂条件下加热反应得到油酰乙醇胺,利用单因素实验考察了反应时间、反应温度以及脂肪酸甲酯与乙醇胺物质的量比对油酰乙醇胺产率

的影响,并得到了制备油酰乙醇胺的最优反应条件,然后在最优反应条件下,合成了一系列脂肪酰乙醇胺,最后通过核磁氢谱、碳谱以及高分辨质谱确证了它们的结构,以期为以后开展脂肪酰乙醇胺生物活性研究提供足够的样品。

1 材料与方法

1.1 实验材料

棕榈酸甲酯(PA-OCH₃)、硬脂酸甲酯(SA-OCH₃)、棕榈油酸甲酯(POA-OCH₃)、油酸甲酯(OA-OCH₃)、亚油酸甲酯(LOA-OCH₃)、亚麻酸甲酯(LA-OCH₃)、花生四烯酸甲酯(AA-OCH₃)、二十碳五烯酸甲酯(EPA-OCH₃)、二十二碳五烯酸甲酯(DPA-OCH₃)、二十二碳六烯酸甲酯(DHA-OCH₃)和油酰乙醇胺均为分析纯,购自上海麦克林生化科技有限公司。乙醇胺、乙酸乙酯等均为分析纯,甲醇为色谱纯,国药集团化学试剂有限公司。

NP7000半制备液相色谱仪,江苏汉邦科技有限公司;Waters E2695高效液相色谱仪;Waters Micromass-LCT TOF飞行时间质谱仪;Hei-VAP G3海道夫旋转蒸发器;Bruker 400 MHz核磁共振仪;DF-101S磁力搅拌器。

1.2 实验方法

1.2.1 脂肪酰乙醇胺的制备

在装有磁力搅拌子的25 mL圆底烧瓶中加入4 mmol脂肪酸甲酯,按一定物质的量比加入乙醇胺,于一定温度下油浴加热反应一定时间,反应结束后即得到脂肪酰乙醇胺粗化合物。

1.2.2 脂肪酰乙醇胺的分离纯化

将脂肪酰乙醇胺粗化合物经过硅胶柱层析分离纯化后,再进行半制备液相色谱的分离纯化,收集相应的馏分,浓缩后即得相应脂肪酰乙醇胺。硅胶柱层析洗脱剂为乙酸乙酯-石油醚(体积比2:1)。半制备液相色谱条件:Agilent XDB C-18色谱柱(21.5 mm × 150 mm, 5 μ m);进样量1 mL;流动相为甲醇-水(体积比95:5),流速15 mL/min;检测波长205 nm。

1.2.3 油酰乙醇胺含量测定及产率计算

1.2.3.1 油酰乙醇胺含量测定

参考文献[11]并稍作修改,采用高效液相色谱法测定油酰乙醇胺的含量。

液相色谱条件:Hypersil ODS2色谱柱(4.6 mm ×

250 mm, 5 μm); 进样量 5 μL ; 流动相为甲醇-水(体积比 95:5), 流速 1 $\mu\text{L}/\text{min}$; 检测波长 205 nm; 检测时间 20 min。

标准曲线的绘制: 准确配制 10、20、40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的油酰乙醇胺标准溶液, 进高效液相色谱测定归一化积分面积, 以油酰乙醇胺的质量浓度(x)为横坐标, 积分面积(y)为纵坐标绘制标准曲线, 得到油酰乙醇胺的标准曲线方程为 $y = 5377.4x - 3457 (R^2 = 0.9959)$ 。

样品测定: 按 1.2.1 制备油酰乙醇胺粗化合物, 将其全部溶于甲醇, 并准确定容至 10 mL, 稀释 500 倍之后, 进高效液相色谱仪测定, 根据峰面积和标准曲线方程计算油酰乙醇胺含量。

1.2.3.2 油酰乙醇胺产率计算

油酰乙醇胺产率(y_1)按下式计算。

$$y_1 = m_1/m \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为油酰乙醇胺粗化合物中油酰乙醇胺的质量, g; m 为理论油酰乙醇胺的质量, g。

1.2.4 脂肪酰乙醇胺产率的计算

脂肪酰乙醇胺产率(y_2)按下式计算。

$$y_2 = m_2/m \times 100\% \quad (2)$$

式中: m_2 为柱层析之后脂肪酰乙醇胺的质量, g; m 为理论脂肪酰乙醇胺的质量, g。

1.2.5 脂肪酰乙醇胺的结构表征

将 1.2.2 得到的脂肪酰乙醇胺通过核磁氢谱、碳谱以及高分辨质谱进行结构表征。核磁检测样品配制及检测: 移取脂肪酰乙醇胺约 10 mg, 加入 0.50 mL DMSO- d_6 进行溶解, 置于 Bruker 400 MHz 核磁共振仪上检测。高分辨质谱检测样品配制及检测: 移取脂肪酰乙醇胺约 5 mg, 甲醇溶解, 并稀释至质量浓度约为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 在 Waters Micromass - LCT TOF 飞行时间质谱仪进行检测^[12]。

2 结果与讨论

2.1 油酰乙醇胺制备工艺条件优化

2.1.1 反应时间对油酰乙醇胺产率的影响

在油酸甲酯与乙醇胺物质的量比 1:1, 反应温度 80 $^{\circ}\text{C}$, 反应时间分别为 1、8、15、24 h 条件下制备油酰乙醇胺, 考察反应时间对油酰乙醇胺产率的影响, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知, 当反应时间为 1 h 时, 因为时间过短, 油酰乙醇胺产率很低, 只有 1.26%。随着反应时间的延长, 油酰乙醇胺产率不断增加, 反应时间为 15 h 时, 油酰乙醇胺产率达到最大, 为 35.94%。但是当反应时间继续延长到 24 h 时, 油酰乙醇胺产率下降到 21.09%, 可能的原因是太长反应时间会破坏

油酸甲酯和油酰乙醇胺的双键, 使副产物增加, 油酰乙醇胺产率下降。因此, 选择最佳反应时间为 15 h。

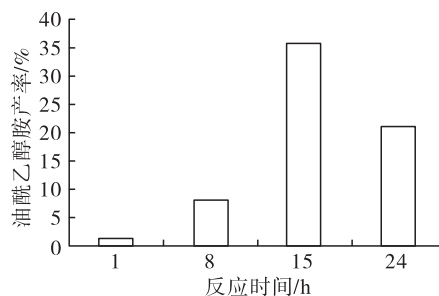


图 1 反应时间对油酰乙醇胺产率的影响

2.1.2 反应温度对油酰乙醇胺产率的影响

在油酸甲酯与乙醇胺物质的量比 1:1, 反应温度分别为 60、80、100 $^{\circ}\text{C}$ 和 120 $^{\circ}\text{C}$, 反应时间 15 h 条件下制备油酰乙醇胺, 考察反应温度对油酰乙醇胺产率的影响, 结果如图 2 所示。

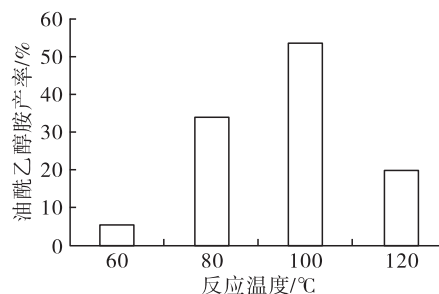


图 2 反应温度对油酰乙醇胺产率的影响

由图 2 可知, 反应温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 时, 因温度较低, 反应未完全, 油酰乙醇胺产率只有 5.41%。随着反应温度的升高, 油酰乙醇胺产率不断增加, 当反应温度达到 100 $^{\circ}\text{C}$ 时, 油酰乙醇胺产率达到最大, 为 53.99%。但是当反应温度继续升高到 120 $^{\circ}\text{C}$ 时, 油酰乙醇胺产率急剧下降到 19.67%, 可能的原因是太高的反应温度会破坏油酸甲酯和油酰乙醇胺的双键, 导致油酰乙醇胺产率下降。因此, 选择最佳反应温度为 100 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.3 油酸甲酯与乙醇胺物质的量比对油酰乙醇胺产率的影响

在油酸甲酯与乙醇胺物质的量比分别为 1:1、1:2、1:5、1:10, 反应温度 100 $^{\circ}\text{C}$, 反应时间 15 h 条件下制备油酰乙醇胺, 考察油酸甲酯与乙醇胺物质的量比对油酰乙醇胺产率的影响, 结果如图 3 所示。

由图 3 可知, 当油酸甲酯与乙醇胺物质的量比为 1:1、1:2、1:5 和 1:10 时, 油酰乙醇胺的产率分别为 53.99%、54.65%、76.52% 和 82.50%。虽然随着乙醇胺加入比例的增加, 油酰乙醇胺产率不断增加, 但是油酸甲酯与乙醇胺物质的量比从 1:5 增加到 1:10 时, 油酰乙醇胺产率增加不明显。为了节约

原料成本,减少物料浪费,选择最佳油酸甲酯与乙醇胺物质的量比为1:5。

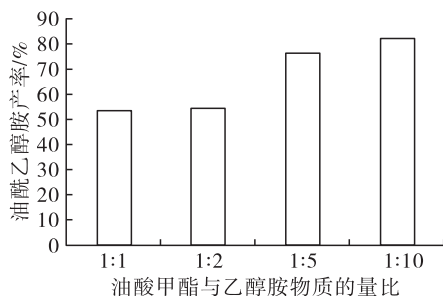


图3 油酸甲酯与乙醇胺物质的量比对油酰乙醇胺产率的影响

从以上实验结果可知,以油酸甲酯和乙醇胺为原料制备油酰乙醇胺,其最佳的反应条件为无溶剂、油酸甲酯与乙醇胺物质的量比1:5、反应温度100℃、反应时间15 h。在最佳反应条件下,油酰乙醇胺产率为76.52%。

2.2 脂肪酰乙醇胺合成的普适性

采用油酰乙醇胺制备的最佳反应条件,即脂肪酸甲酯与乙醇胺物质的量比1:5、反应温度100℃、反应时间15 h,以10种饱和及不饱和的脂肪酸甲酯(PA-OCH₃, SA-OCH₃, POA-OCH₃, OA-OCH₃, LOA-OCH₃, LA-OCH₃, AA-OCH₃, EPA-OCH₃, DPA-OCH₃和DHA-OCH₃)为原料制备脂肪酰乙醇胺,得到的棕榈酰乙醇胺、硬脂酰乙醇胺、棕榈油酰乙醇胺、油酰乙醇胺、亚油酰乙醇胺、亚麻酰乙醇胺、花生四烯酰乙醇胺、二十碳五烯酰乙醇胺、二十二碳五烯酰乙醇胺和二十二碳六烯酰乙醇胺产率分别为83%、87%、68%、77%、72%、53%、57%、70%、65%和78%,产率在53%~87%之间。

2.3 脂肪酰乙醇胺的结构表征

采用核磁氢谱、碳谱以及高分辨质谱对分离纯化的脂肪酰乙醇胺进行结构表征,10种脂肪酰乙醇胺的结构表征数据如下。

棕榈酰乙醇胺为白色固体,¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ7.75 (br, 1H, NH), 4.64 (br, 1H, OH), 3.39~3.37 (m, 2H, CH₂OH), 3.11~3.07 (m, 2H, NHCH₂), 2.06~2.02 (m, 2H), 1.48~1.45 (m, 2H), 1.28~1.24 (m, 24H), 0.88~0.84 (m, 3H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ172.72, 60.44, 41.84, 35.83, 31.76, 29.51, 29.40, 29.26, 29.17, 25.73, 22.56, 14.43。高分辨质谱 (TOF-MS): [C₁₈H₃₇NO₂+H]⁺ 计算值300.2897, 实验值300.2893。

硬脂酰乙醇胺为白色固体,¹H NMR (400 MHz,

DMSO-d₆): δ7.84 (br, 1H, NH), 4.64 (br, 1H, OH), 3.32~3.30 (m, 2H, CH₂OH), 3.10~3.08 (m, 2H, NHCH₂), 2.06~2.03 (m, 2H), 1.46~1.44 (m, 2H), 1.27~1.23 (m, 28H), 0.86~0.84 (m, 3H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ172.71, 60.44, 41.84, 35.83, 31.76, 29.49, 29.26, 29.16, 25.74, 22.56, 14.43。高分辨质谱 (TOF-MS): [C₂₀H₄₁NO₂+H]⁺ 计算值328.3210, 实验值328.3216。

棕榈油酰乙醇胺为白色固体,¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ7.75 (br, 1H, NH), 5.37~5.29 (m, 2H, —CH=CH—), 4.64 (br, 1H, OH), 3.39~3.37 (m, 2H, CH₂OH), 3.11~3.07 (m, 2H, NHCH₂), 2.06~1.96 (m, 6H), 1.50~1.45 (m, 2H), 1.29~1.24 (m, 16H), 0.87~0.84 (m, 3H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ172.69, 130.09, 130.08, 60.44, 41.84, 35.82, 31.75, 29.59, 29.56, 29.30, 29.16, 29.05, 29.02, 27.07, 27.03, 25.74, 22.56, 14.41。高分辨质谱 (TOF-MS): [C₁₈H₃₅NO₂+H]⁺ 计算值298.2741, 实验值298.2755。

油酰乙醇胺为白色固体,¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ7.77 (br, 1H, NH), 5.34~5.31 (m, 2H, —CH=CH—), 4.66 (br, 1H, OH), 3.40~3.38 (m, 2H, CH₂OH), 3.11~3.07 (m, 2H, NHCH₂), 2.06~1.96 (m, 6H), 1.50~1.44 (m, 2H), 1.29~1.24 (m, 20H), 0.87~0.84 (m, 3H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ172.85, 130.09, 130.08, 60.40, 41.83, 35.82, 31.73, 29.58, 29.56, 29.54, 29.29, 29.28, 29.14, 29.03, 29.00, 27.06, 27.01, 25.73, 22.55, 14.39。高分辨质谱 (TOF-MS): [C₂₀H₃₉NO₂+H]⁺ 计算值326.3054, 实验值326.3060。

亚油酰乙醇胺为白色蜡状物,¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ7.75 (br, 1H, NH), 5.38~5.27 (m, 4H, 2—CH=CH—), 4.64 (br, 1H, OH), 3.39~3.38 (m, 2H, CH₂OH), 3.11~3.07 (m, 2H, NHCH₂), 2.76~2.72 (m, 2H), 2.06~2.00 (m, 6H), 1.50~1.45 (m, 2H), 1.35~1.25 (m, 14H), 0.92~0.89 (m, 3H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ172.69, 130.20, 130.19, 128.21, 128.20, 60.45, 41.84, 35.82, 31.36, 29.51, 29.49, 29.19, 29.16, 29.05, 27.11, 27.07, 25.74, 25.68, 22.44, 14.39。高分辨质谱

(TOF-MS): $[C_{20}H_{37}NO_2 + H]^+$ 计算值 324.289 7, 实验值 324.288 9。

亚麻酰乙醇胺为淡黄色黏稠物, 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.75 (br, 1H, NH), 5.40 ~ 5.25 (m, 6H, 3-CH=CH-), 4.64 (br, 1H, OH), 3.39 ~ 3.38 (m, 2H, CH₂OH), 3.11 ~ 3.07 (m, 2H, NHCH₂), 2.79 ~ 2.76 (m, 4H), 2.08 ~ 2.00 (m, 6H), 1.50 ~ 1.43 (m, 2H), 1.32 ~ 1.24 (m, 8H), 0.95 ~ 0.91 (m, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 172.70, 131.96, 130.37, 128.40, 128.37, 128.00, 127.44, 60.44, 41.84, 35.82, 29.50, 29.49, 29.15, 29.04, 27.11, 25.73, 25.66, 25.57, 20.51, 14.58。高分辨质谱 (TOF-MS): $[C_{20}H_{35}NO_2 + H]^+$ 计算值 322.274 1, 实验值 322.274 2。

花生四烯酰乙醇胺为淡黄色油状物, 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.77 (br, 1H, NH), 5.38 ~ 5.30 (m, 8H, 4-CH=CH-), 4.64 (br, 1H, OH), 3.39 ~ 3.38 (m, 2H, CH₂OH), 3.11 ~ 3.07 (m, 2H, NHCH₂), 2.83 ~ 2.78 (m, 6H), 2.09 ~ 2.00 (m, 6H), 1.57 ~ 1.52 (m, 2H), 1.34 ~ 1.26 (m, 6H), 0.88 ~ 0.85 (m, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 172.49, 130.41, 129.92, 128.59, 128.48, 128.45, 128.24, 128.14, 127.99, 60.42, 41.85, 35.27, 31.35, 29.18, 27.08, 27.05, 26.75, 25.74, 25.68, 25.66, 22.44, 14.39。高分辨质谱 (TOF-MS): $[C_{22}H_{37}NO_2 + H]^+$ 计算值 348.289 7, 实验值 348.288 7。

二十碳五烯酰乙醇胺为淡黄色油状物, 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.81 (br, 1H, NH), 5.36 ~ 5.31 (m, 10H, 5-CH=CH-), 4.63 (br, 1H, OH), 3.38 ~ 3.35 (m, 2H, CH₂OH), 3.10 ~ 3.08 (m, 2H, NHCH₂), 2.83 ~ 2.78 (m, 6H), 2.09 ~ 1.99 (m, 6H), 1.54 ~ 1.43 (m, 4H), 0.92 ~ 0.87 (m, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 172.47, 132.02, 130.09, 129.93, 128.59, 128.54, 128.44, 128.37, 128.33, 128.21, 128.16, 127.41, 60.46, 41.86, 35.83, 35.28, 31.59, 29.55, 29.48, 29.14, 27.06, 26.76, 25.73, 25.67, 25.58, 422.54, 20.50, 14.57。高分辨质谱 (TOF-MS): $[C_{22}H_{35}NO_2 + H]^+$ 计算值 346.274 1, 实验值 346.273 5。

二十二碳五烯酰乙醇胺为淡黄色蜡状物, 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 6.21 (br, 1H, NH), 5.46 ~ 5.31 (m, 10H, 5-CH=CH-),

3.72 ~ 3.70 (m, 2H, CH₂OH), 3.42 ~ 3.39 (m, 2H, NHCH₂), 2.85 ~ 2.82 (m, 6H), 2.81 (s, 1H, OH), 2.45 ~ 2.40 (m, 2H), 2.30 ~ 2.26 (m, 2H), 2.09 ~ 2.04 (m, 2H), 1.40 ~ 1.26 (m, 8H), 0.90 ~ 0.88 (m, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 173.78, 130.52, 129.47, 128.63, 128.37, 128.06, 128.02, 127.99, 127.84, 127.53, 62.20, 42.40, 36.31, 31.51, 29.31, 27.22, 25.64, 25.60, 23.39, 22.57, 14.07。高分辨质谱 (TOF-MS): $[C_{24}H_{39}NO_2 + H]^+$ 计算值 374.305 4, 实验值 374.303 6。

二十二碳六烯酰乙醇胺为淡黄色油状物, 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.76 (br, 1H, NH), 5.38 ~ 5.27 (m, 12H, 6-CH=CH-), 4.61 (br, 1H, OH), 3.40 ~ 3.32 (m, 2H, CH₂OH), 3.11 ~ 3.08 (m, 2H, NHCH₂), 2.83 ~ 2.77 (m, 10H), 2.26 ~ 2.23 (m, 2H), 2.13 ~ 1.99 (m, 4H), 0.94 ~ 0.86 (m, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 172.00, 132.01, 129.42, 128.59, 128.56, 128.48, 128.37, 128.35, 128.32, 128.21, 128.16, 127.41, 60.44, 41.91, 35.63, 29.15, 25.68, 25.63, 25.58, 23.59, 20.50, 14.56。高分辨质谱 (TOF-MS): $[C_{24}H_{37}NO_2 + H]^+$ 计算值 372.289 7, 实验值 372.288 6。

以上数据表明,通过核磁氢谱、碳谱以及高分辨质谱确证了 10 种目标化合物的结构。

3 结论

本文以油酸甲酯与乙醇胺为原料,采用绿色无污染反应方法制备油酰乙醇胺,采用单因素实验考察了反应温度、反应时间以及油酸甲酯与乙醇胺物质的量比对油酰乙醇胺产率的影响。结果表明,在无溶剂、油酸甲酯与乙醇胺物质的量比 1:5、反应温度 100℃、反应时间 15 h 条件下,油酰乙醇胺产率为 76.52%。然后在最佳条件下,考察了反应底物的普适性,得到 10 种脂肪酰乙醇胺目标化合物,其产率在 53% ~ 87% 之间。采用核磁氢谱、碳谱以及高分辨质谱进一步确证了 10 种脂肪酰乙醇胺结构。该方法反应条件绿色无污染,分离纯化成本低,操作简易,且可以获得克级以上的高纯度脂肪酰乙醇胺,可为以后开展脂肪酰乙醇胺的生物活性研究提供足够的样品。

参考文献:

- [1] 陈月晓,马玉霞,陆颖,等. 常见食用植物油中特征性脂肪酸的检测及鉴别[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24 (4): 301-305.

(下转第 97 页)

- 26(37): 6724 – 6734.
- [7] FAKIH O, SANVER D, DAVID K, et al. Exploring the biophysical properties of phytosterols in the plasma membrane for novel cancer prevention strategies [J]. *Biochimie*, 2018, 153: 150 – 161.
- [8] GAUTAM M, THAPA R K, GUPTA B, et al. Phytosterol – loaded CD44 receptor – targeted PEGylated nano – hybrid phyto – liposomes for synergistic chemotherapy[J]. *Expert Opin Drug Del*, 2020, 17(3): 423 – 434.
- [9] JOVANOVIĆ A A, BALAN Ć B D, OTA A, et al. Comparative effects of cholesterol and β – sitosterol on the liposome membrane characteristics [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2018, 120(9): 1 – 11.
- [10] TAI K D, RAPPOLT M, HE X Y, et al. Effect of β – sitosterol on the curcumin – loaded liposomes; vesicle characteristics, physicochemical stability, in vitro release and bioavailability[J]. *Food Chem*, 2019, 293: 92 – 102.
- [11] HE W S, ZHU H Y, CHEN Z Y. Plant sterols: chemical and enzymatic structural modifications and effects on their cholesterol – lowering activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(12): 3047 – 3062.
- [12] MIETTINEN T A, VUORISTO M, NISSINEN M, et al. Serum, biliary, and fecal cholesterol and plant sterols in colectomized patients before and during consumption of stanol ester margarine [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71(5): 1095 – 1102.
- [13] 张品, 邓乾春, 黄庆德, 等. 不饱和脂肪酸植物甾醇酯的合成工艺研究进展[J]. *中国油脂*, 2009, 34(7): 37 – 41.
- [14] 张文华, 石碧. 不饱和脂肪酸结构与自动氧化关系的理论研究[J]. *皮革科学与工程*, 2009, 19(4): 5 – 9.
- [15] 陈茂彬. 植物甾醇酯的制备、生物活性及应用研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [16] PAN L, ZHANG S W, GU K R, et al. Preparation of astaxanthin – loaded liposomes: characterization, storage stability and antioxidant activity [J]. *CyTA – J Food*, 2018, 16(1): 607 – 618.
- [17] PAN L, ZHANG X, FAN X Z, et al. Whey protein isolate coated liposomes as novel carrier systems for astaxanthin [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2020, 122(4): 1 – 10.
- [18] 宁永成. 有机波谱学谱图解析 [M]. 北京: 科学出版社, 2010: 106 – 114.
- [19] 张品. α – 亚麻酸甾醇酯的合成及品质特性研究 [D]. 武汉: 中国农业科学院, 2009.
- [20] PAN L, WANG H Y, GU K R. Nanoliposomes as vehicles for astaxanthin: characterization, in vitro release evaluation and structure [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 1 – 12.
- [21] TAMJIDI F, SHAHEDI M, VARSHOSAZ J, et al. Design and characterization of astaxanthin – loaded nanostructured lipid carriers [J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2014, 26: 366 – 374.
- [22] ZHAO L S, TEMELLI F, CURTIS J M, et al. Preparation of liposomes using supercritical carbon dioxide technology: effects of phospholipids and sterols [J]. *Food Res Int*, 2015, 77: 63 – 72.
- [23] FAN M H, XU S Y, XIA S Q, et al. Preparation of salidroside nano – liposomes by ethanol injection method and in vitro release study [J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 227(1): 167 – 174.
- [24] ALEXANDER M, ACERO L A, FANG Y, et al. Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: encapsulation efficiency and stability [J]. *LWT – Food Sci Technol*, 2012, 47(2): 427 – 436.
-
- (上接第 55 页)
- [2] 杨敏, 魏冰, 孟橘, 等. ω – 3 多不饱和脂肪酸的来源及生理功能研究进展 [J]. *中国油脂*, 2019, 44(10): 110 – 114.
- [3] 于喆. DHA 来源及分离纯化方法的研究进展 [J]. *天津农业科学*, 2017, 23(7): 29 – 32.
- [4] SAINI R K, KEUM Y S. *Omega* – 3 and *omega* – 6 polyunsaturated fatty acids: dietary sources, metabolism, and significance; a review [J]. *Life Sci*, 2018, 203: 255 – 267.
- [5] 马方, 杨宜婷, 陈则华. 不同类型 n – 3 多不饱和脂肪酸对心血管疾病的防治作用及其机制研究进展 [J]. *中国油脂*, 2018, 43(2): 65 – 69.
- [6] 荆珊, 谭莉, 杨克旭, 等. ω – 3 – 脂肪酸乙酯在中国健康受试者中单次和多次给药的药代动力学研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(10): 1226 – 1230.
- [7] 张兆倩, 刘飞, 张金华, 等. 二十碳五烯酸生物活性及药理作用研究进展 [J]. *食品与药品*, 2020, 22(4): 316 – 320.
- [8] 张小林, 林志雄. 内源性大麻素系统抗胶质瘤的作用机制 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(3): 274 – 277.
- [9] 张春, 李学艳, 杨兴, 等. 大麻素类物质应用于骨关节炎疼痛治疗 [J]. *国际骨科学杂志*, 2021, 42(3): 158 – 161.
- [10] FANG H, ZHANG J Y, AO M T, et al. Synthesis and discovery of ω – 3 polyunsaturated fatty acid – alkanolamine (PUFA – AA) derivatives as anti – inflammatory agents targeting Nur77 [J/OL]. *Bioorg Chem*, 2020, 105: 104456 [2021 – 08 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104456>.
- [11] 方华, 谢全灵, 黄晓燕, 等. 多不饱和脂肪酸酞乙醇胺的合成工艺研究 [J]. *中国油脂*, 2013, 38(12): 53 – 56.
- [12] 丁养军, 赵先恩, 朱芳, 等. 液相色谱 – 质谱大气压化学电离源鉴定深海鱼油中长链不饱和脂肪酸 [J]. *分析化学*, 2007, 35(3): 375 – 381.