

油酸聚氧乙烯酯的结构解析表征

杨锐, 王露露, 赵芯, 许凯, 李海亮, 王珏, 张朝阳, 孙会敏* (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 对药用辅料油酸聚氧乙烯酯的结构进行解析表征。方法: 采用超高效液相-高分辨质谱(UHPLC-HRMS)检测, 根据高分辨质谱提供的分子离子峰和碎片信息, 获取目标化合物的相对分子质量和结构信息, 利用 MassHunter 质谱工作站及数据分析功能(PCDL、FBF、MFG)对油酸聚氧乙烯酯(460/860)的结构进行分析表征。结果: 油酸聚氧乙烯酯主要组分包括聚乙二醇及其单酯和双酯, 脂肪酸以油酸为主, 同时含有肉豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸、亚油酸和亚麻酸。油酸聚氧乙烯酯(460)和油酸聚氧乙烯酯(860)两个型号游离聚乙二醇聚合度差别较大。结论: 利用 UHPLC-HRMS 对油酸聚氧乙烯酯的结构进行解析表征, 发现其结构中不仅含有药典中所描述的聚乙二醇单酯和双酯, 还含有大量未酯化的游离聚乙二醇单体。不同型号的油酸聚氧乙烯酯中聚氧乙烯单酯和双酯的聚合度差别较小, 但游离的聚乙二醇差别较大。

关键词: 油酸聚氧乙烯酯; 超高效液相色谱-串联质谱法; 聚乙二醇

中图分类号: TQ460.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2019)08-0936-08

doi:10.16153/j.1002-7777.2019.08.014

Structural Analytical Characterization of Polyoxyl Oleate

Yang Rui, Wang Lulu, Zhao Xin, Xu Kai, Li Hailiang, Wang Jue, Zhang Zhaoyang, Sun Huimin* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To characterize the structure of pharmaceutical excipients polyoxyl oleate. **Methods:** UHPLC-HRMS detection was used to obtain the relative molecular mass and the structural information of polyoxyl oleate based on molecular ion peak and fragment information provided by high resolution mass spectrometry. The structure of polyoxyl oleate (460/860) was characterized by Mass Hunter mass spectrometry workstation and data analysis functions (PCDL, FBF, MFG). **Results:** The main components of polyoxyl oleate included polyethylene glycol, monoesters and diesters. The fatty acids were mainly oleic acid, and contained myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, linoleic acid and linolenic acid at the same time. Polyoxyl oleate 460 and polyoxyl oleate 860 differed greatly in the degree of polymerization of free polyethylene glycol. **Conclusion:** UHPLC-HRMS was used to analyze and characterize the structure of polyoxyl oleate. It was found that the structure not only contained polyethylene glycol monoester and diester described in *the Pharmacopoeia*, but also contained a large number of free polyethylene glycol monomers which were not esterified. The polymerization degree of polyoxyethylene monoester and diester of various types of polyoxyl oleate differed slightly, while the degree of free polyethylene glycol differed greatly.

Keywords: polyoxyl oleate; UHPLC-HRMS; polyethylene glycol

作者简介: 杨锐, 博士, 副研究员; 研究方向: 药用辅料质量控制; Tel: (010) 67095310; E-mail: yangrui@china.126.com

通信作者: 孙会敏, 博士, 研究员; 研究方向: 药用辅料与包装材料质量控制; Tel: (010) 67095721; E-mail: sunhm@126.com

《中华人民共和国药典》2015年版四部定义油酸聚氧乙烯酯为油酸和聚乙二醇单酯和双酯的混

合物，反应式见图1。

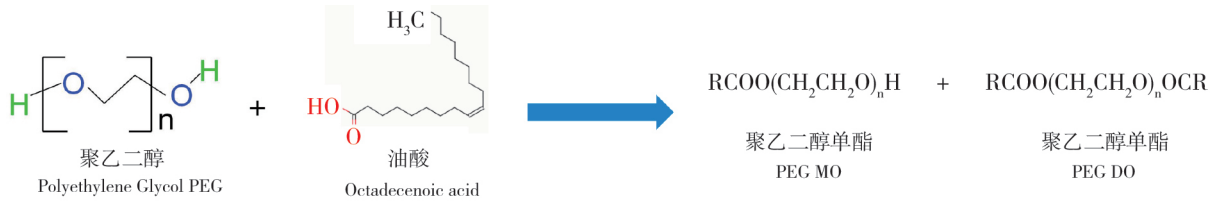


图1 油酸聚氧乙烯酯反应方程式

油酸聚氧乙烯酯可由动植物油酸环氧化或由油酸与聚乙二醇酯化制得。分子式以 $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ 表示。n约为5~6或10^[1]。是一种非离子表面活性剂，具有低泡和生物降解性好的特

点，化学结构中存在酯键，对热、酸、碱等方面均不够稳定^[2]。在药剂中常作为乳化剂、润湿剂、增溶剂^[3-13]。其结构式见图2。

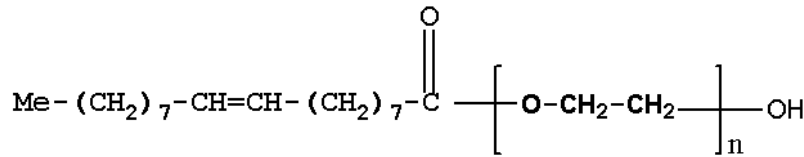


图2 油酸聚氧乙烯酯分子结构

市售的油酸聚氧乙烯酯分为460和860两个型号，不同型号的区别在于油酸聚氧乙烯酯分子中聚氧乙烯聚合度(n)的不同，其中460的n约为5~6，860的n为10。由于其结构成分复杂，聚合度差异大，导致批间生产差异较大，而作为一种表面活性剂，含量组成变化不仅对乳化性、润湿性会有明显不同的效果，而且对化学指标、应用性能、稳定性，甚至安全性等均有影响，这在临床使用中会存在很大的安全风险。本文采用UHPLC-HRMS对其结构进行确证，发现市售的油酸聚氧乙烯酯不仅仅含有药典定义的油酸和聚乙二醇单酯和双酯，还含有大量游离的聚乙二醇单体，而游离聚乙二醇没有亲油端，起不到表面活性剂的功能性作用。以前报道中不同型号的聚氧乙烯酯差别在于双酯和单酯中聚氧乙烯聚合度的不同^[14]；但经过研究发现市售样品中双酯和单酯的聚合度差别并不大，而未成酯的游离聚乙二醇聚合度差别较大。以上研究将为科学评价油酸聚氧乙烯酯的质量和功能提供依据。本研究使用的超高效液相色谱-串联质谱法结合了色谱、质谱两者的优点，具有高速、高效、高分辨、微量检测及分析自动化的性能和技术优势，可同时

进行定性和定量检测，且检出限低、灵敏度高，对于同时测定多种分子量化合物是一种较好的确证方法^[15]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

安捷伦1290 (Agilent 1290 Infinity UHPLC-6500 QTOF HRMS)；MassHunter质谱工作站及数据分析功能(PCDL、FBF、MFG)。

1.2 材料

油酸聚氧乙烯酯(460)(由sigma公司提供，批号为MKBS8713V)、油酸聚氧乙烯酯(860)(由sigma公司提供，批号为11616MIV)；乙腈、四氢呋喃、正庚烷均为HPLC级；甲酸、乙酸铵均为质谱级。

2 方法

2.1 超高效液相(UHPLC)系统条件

WAX色谱柱(Agilent, 30 m × 0.32 mm)，以水(含0.2%甲酸+5 mmol乙酸铵)(A)-乙腈(B)-四氢呋喃(C)为流动相，流速0.4 mL · min⁻¹，柱温45℃，梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间 /min	流动相		
	A 比例 /%	B 比例 /%	C 比例 /%
0.00	50	50	0
1.00	50	50	0
5.00	15	10	75
8.00	15	10	75
8.10	50	50	0

2.2 飞行时间质谱(Q-TOF-MS)测定条件

离子化方式: ESI, 离子极性: ES+, 毛细管电压: 4000 V, MS质量扫描范围: m/z 100 ~ 3200, 雾化器压力: 35 psi。

2.3 油酸聚氧乙烯酯(460)/(860)的UHPLC-HRMS分析

称取油酸聚氧乙烯酯样品各10 mg, 用异丙醇-二氯甲烷(20:1)溶解并稀释至100 mL, 制备成油酸聚氧乙烯酯浓度约为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液。

取上述配制的油酸聚氧乙烯酯样品溶液, 按

照测定条件设置UHPLC和Q-TOF-MS的各测定参数, 采集样品中油酸聚氧乙烯酯的分子离子和碎片离子信息, 并分别进行结构确证。

3 结果

3.1 油酸聚氧乙烯酯(460)质谱结构表征

油酸聚氧乙烯酯(460)主要组分包括聚乙二醇单酯和双酯(见图3), 聚氧乙烯在含铵盐的流动相体系下电离加合形式主要以 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 形式存在, 聚合分布 $n=5 \sim 19$ 。聚合度 n 向高值方向变化, 在7时达到峰值(见图4)。

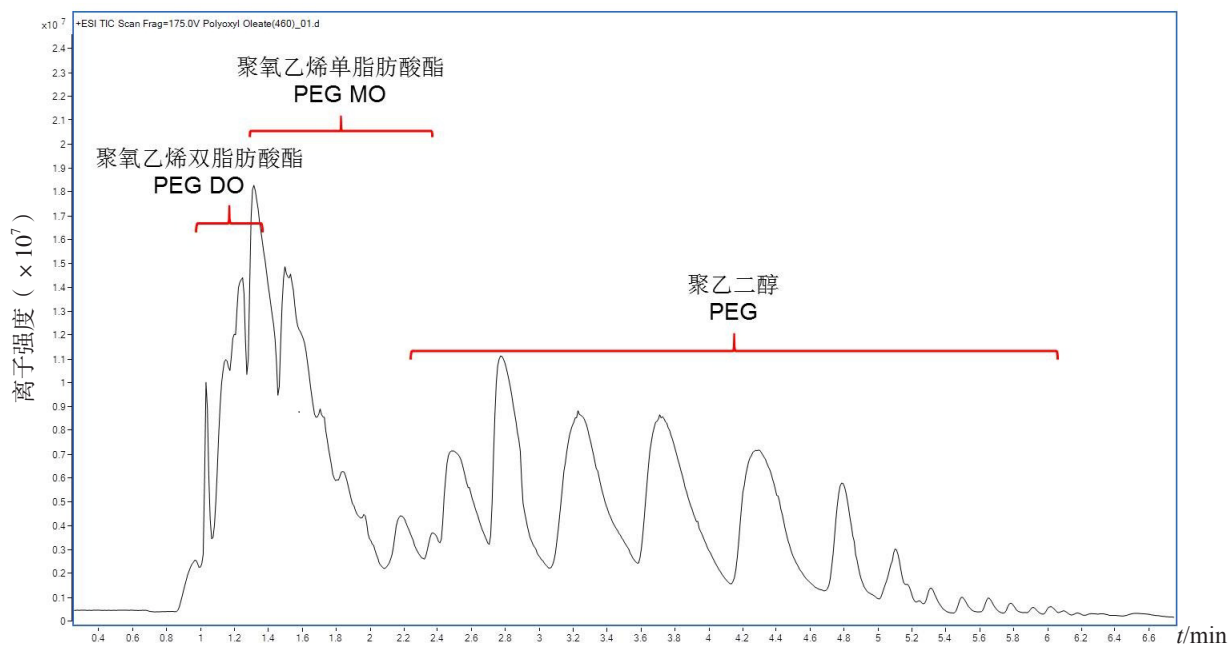


图3 油酸聚氧乙烯酯(460)质谱表征结果

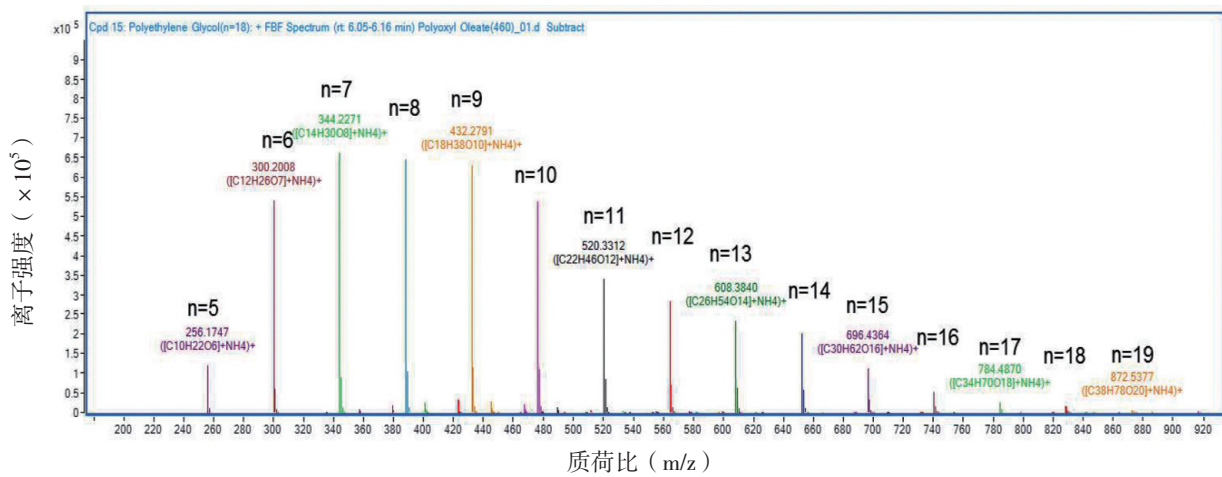


图4 油酸聚氧乙烯酯(460)中游离聚乙二醇质谱表征结果

油酸聚氧乙烯酯(460)脂肪酸以油酸为主,但同时含有肉豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸、亚油酸和亚麻酸。主要以正离子模式电离,在含铵盐

的流动相体系下电离加合形式主要以 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+2NH_4]^{2+}$ 、 $[M+3NH_4]^{3+}$ 和 $[2M+NH_4]^+$ 形式存在;随着聚合度的增高,二价和三价离子比例增高,见表2。

表2 油酸聚氧乙烯酯(460)质谱表征结果

组分	分子式	聚合度分布 (n)	分子量范围	离子化形式	
PEG	$H[OC_2H_4]_nOH$	5~19	256.2~872.5	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$	
PEG 单酯	油酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{33}$	3~19	458.4~1136.8	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	肉豆蔻酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{14}H_{27}$	4~15	404.3~888.6	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	棕榈酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{16}H_{31}$	3~20	388.3~1136.8	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	硬脂酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{35}$	-	-	-
	棕榈油酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{16}H_{29}$	4~20	430.3~1134.7	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	亚油酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{31}$	4~23	456.3~1292.8	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	亚麻酸单酯	$H[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{29}$	5~20	498.4~1158.7	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$

续表 2

组分	分子式	聚合度分布 (n)	分子量范围	离子化形式	
PEG 双酯	油酸 + 油酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{33}$	2~11	652.6~1048.8	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 肉豆蔻酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{14}H_{27}$	3~12	624.5~1020.8	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 棕榈酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{16}H_{31}$	3~11	652.5~1004.8	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 硬脂酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{35}$	-	-	-
	油酸 + 棕榈油酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{16}H_{29}$	3~12	650.5~1046.8	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 亚油酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{31}$	3~11	676.5~1028.8	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 亚麻酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{29}$	7~12	850.6~1070.8	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$

注: 表格中“-”表示未检出。

3.2 油酸聚氧乙烯酯(860)质谱结构表征

油酸聚氧乙烯酯(860)主要组分包括聚乙二醇及其单酯和双酯(见图5); 游离聚乙二醇在含

铵盐的流动相体系下电离加合形式主要以 $[M+NH_4]^+$ 形式存在, 聚合分布 $n=3 \sim 50$ 。聚合度分布变化较小(见图6)。

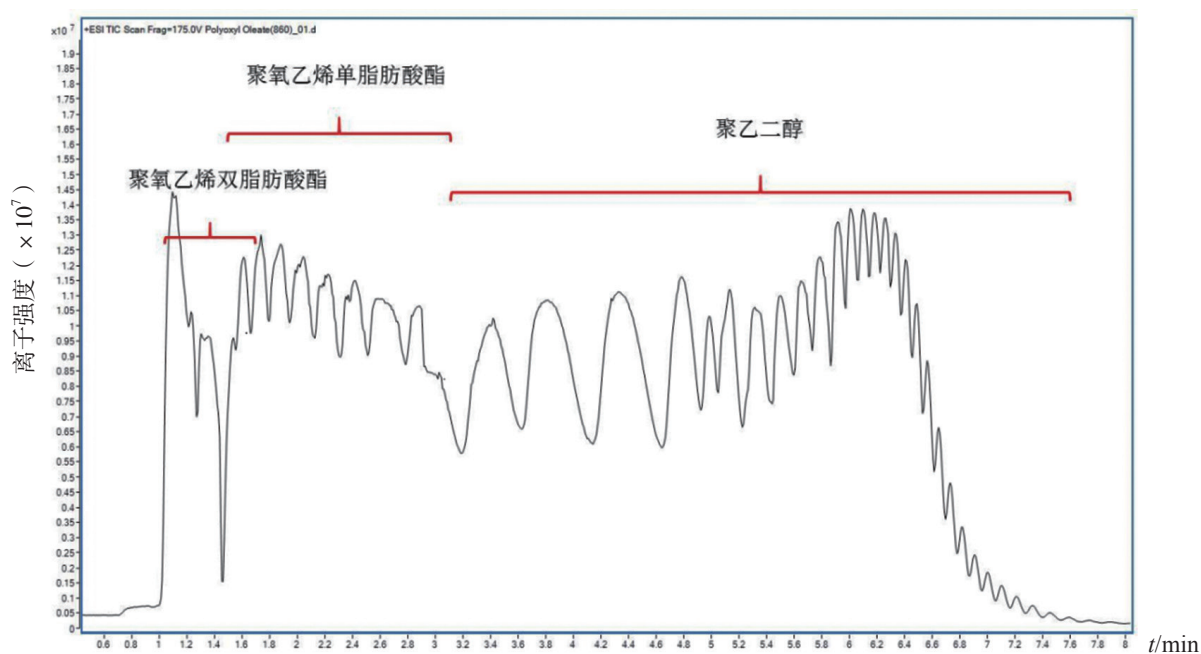


图5 油酸聚氧乙烯酯(860)质谱表征结果

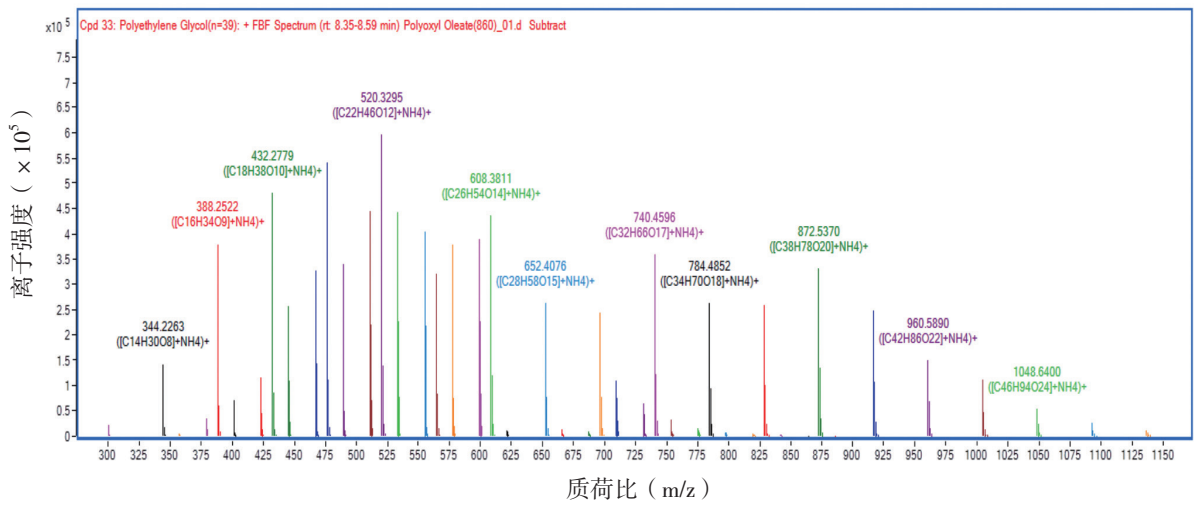


图6 油酸聚氧乙烯酯(860)中游离聚乙二醇质谱表征结果

油酸聚氧乙烯酯(860)脂肪酸以油酸为主,但同时含有肉豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸、亚油酸和亚麻酸。主要以正离子模式电离,在含铵盐的流动相体系下电离加合形式主要以 $[M+NH_4]^+$ 、

$[M+2NH_4]^{2+}$ 、 $[M+3NH_4]^{3+}$ 和 $[2M+NH_4]^+$ 形式存在;随着聚合度的增高,二价和三价离子比例增高(见表3)。

表3 油酸聚氧乙烯酯(860)质谱表征结果

组分	分子式	聚合度分布 (n)	分子量范围	离子化形式	
PEG	$H[OC_2H_4]_n OH$	3~50	150.1~2219.3	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$	
PEG 单酯	油酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{18} H_{33}$	4~28	458.4~1515.0	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	肉豆蔻酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{14} H_{27}$	8~26	580.4~1372.9	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	棕榈酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{16} H_{31}$	7~22	564.4~1224.8	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	硬脂酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{18} H_{35}$	-	-	-
	棕榈油酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{16} H_{29}$	8~26	606.4~1398.9	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	亚油酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{18} H_{31}$	5~29	500.4~1557.0	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	亚麻酸单酯	$H[OC_2H_4]_n O_2 C_{18} H_{29}$	8~29	630.4~1555.0	$[2M+NH_4]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$

续表 3

组分	分子式	聚合度分布 (n)	分子量范围	离子化形式	
PEG 双酯	油酸 + 油酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{33}$	3~23	678.6~1559.1	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 肉豆蔻酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{14}H_{27}$	-	-	-
	油酸 + 棕榈酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{16}H_{31}$	3~10	652.5~960.7	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 硬脂酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{35}$	3~17	680.6~1297.0	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 棕榈油酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{16}H_{29}$	3~19	650.5~1355.0	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 亚油酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{31}$	3~25	676.5~1645.1	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$
	油酸 + 亚麻酸酯	$H_{33}C_{18}O[OC_2H_4]_nO_2C_{18}H_{29}$	9~25	938.7~1643.1	$[M+NH_4]^+$, $[M+2NH_4]^{2+}$

注：表格中“-”表示未检出。

4 讨论

《中华人民共和国药典》2015年版中规定油酸聚氧乙烯酯为油酸和聚乙二醇单酯和双酯的混合物。但在本次研究中发现油酸聚氧乙烯酯除了单酯和双酯外，还有大量的游离聚乙二醇。油酸聚氧乙烯酯作为一种表面活性剂，其表面活性须同时具有亲水端和亲油端。在油酸聚氧乙烯单酯和双酯中，脂肪酸酯是亲油端，聚乙二醇（PEG）的醇羟基作为亲水端发挥作用。但游离聚乙二醇没有亲油端，起不到表面活性剂的作用。在以前的报道中未发现油酸聚氧乙烯酯中存在大量的游离聚乙二醇。

油酸聚氧乙烯酯（460）和油酸聚氧乙烯酯（860）是两个不同的型号，以前报道中聚氧乙烯酯分子量差别在于双酯和单酯中聚氧乙烯聚合度的不同，作为表面活性剂，从结构上分析油酸聚氧乙烯（860）成酯的聚氧乙烯聚合度应该更高，其亲水性也应该更强；经过研究发现市售样品中油酸聚氧乙烯（860）比油酸聚氧乙烯酯（460）双酯和单酯中聚氧乙烯的聚合度（n）普遍只增加了10个，但游离聚乙二醇的聚合度差别更大，油酸聚氧乙烯酯（460）游离聚乙二醇聚合度为5~19，而油酸聚氧乙烯酯（860）游离聚乙二醇聚合度为3~50。由于游离聚乙二醇并不能起到表面活性剂的作用，提示在今后的标准中应加入游离聚乙二醇的含量测定项目。两个型号油酸聚氧乙烯酯中脂肪酸组成结构差别不是很大，主要都是以油酸为主，同时都含有肉豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸、亚油酸和亚麻酸。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[S]. 2015：529.
- [2] 王万兴，佟淑琴. 聚氧乙炔油酸酯的开发[J]. 精细化工，1989，（1）：11-13.
- [3] 张锦琳，张玫，袁耀佐，等. 气相色谱法测定油酸聚氧酯中脂肪酸的组成[J]. 药学与临床研究，2015，23（5）：465-467.
- [4] 李宗石，刘平芹，徐明新. 表面活性剂的合成与工艺[M]. 第二版. 北京：中国轻工业出版社，1995：192.
- [5] 刘燕军，邵建楠，周存. 离子型表面活性剂对乳液性能的影响[J]. 精细石油化工，2018，35（3）：25-29.
- [6] Cotte JF, Sonnery S, Martial F, et al. Characterization of Surfactants in an Oil-in-water Emulsion-based Vaccine Adjuvant Using MS and HPLC-MS: Structural Analysis and Quantification[J]. Int J Pharm, 2012, 436（1-2）：233-239.
- [7] Sintov AC, Shapiro L. New Microemulsion Vehicle Facilitates Percutaneous Penetration in Vitro and Cutaneous Drug Bioavailability in Vivo[J]. J Control Release, 2004, 95（2）：173-83.
- [8] Varghese N, Shetye GS, Bandyopadhyay D, et al. Emulsion of Aqueous-based Nonspherical Droplets in Aqueous Solutions by Single-chain Surfactants: Templated Assembly by Nonamphiphilic Lyotropic Liquid Crystals in Water[J]. Langmuir, 2012, 28（29）：10797-10807.
- [9] McDonald C, Richardson C. The Effect of Added Salts

- on Solubilization by a Non-ionic Surfactant[J]. J Pharm Pharmacol, 1981, 33 (1) : 38-39.
- [10] Moghadam SH, Saliya E, Wettig SD, et al. Effect of Chemical Permeation Enhancers on Stratum Corneum Barrier Lipid Organizational Structure and Interferon Alpha Permeability [J]. Mol Pharm, 2013, 10 (6) : 2248-2260.
- [11] Walters KA, Dugard PH, Florence AT, et al. Non-ionic Surfactants and Gastric Mucosal Transport of Paraquat[J]. J Pharm Pharmacol, 1981, 33 (4) : 207-213.
- [12] Wang Y, Wang X, Wang X, et al. Design and Development of Lidocaine Microemulsions for Transdermal Delivery[J]. AAPS PharmSciTech, 2019, 20 (2) : 63-64.
- [13] Kirilov P, Tran VH, Ducrott é -Tassel A, et al. Ex-Vivo Percutaneous Absorption of Enrofloxacin: Comparison of LMOG Organogel vs. Pentravan Cream[J]. Int J Pharm, 2016, 498 (1-2) : 170-177.
- [14] The United States Pharmacopeial Convention Inc. The United States Pharmacopoeia 40: National Formulary 35[S]. Rockville MD: The United States Pharmacopeial Convention Inc, 2015; 7830.
- [15] 廉慧锋, 赵笑天, 王蓉珍, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定玉米、花生、麦仁中的九种真菌毒素 [J]. 食品科学, 2010, 20 (31) : 360-366.

(收稿日期 2019年4月10日 编辑 王雅雯)