

大环烷烃类生物标志物研究进展

孟宪新^{1,2,3}, 卢鸿^{1,2}, 敖添^{1,2,3}, 彭平安^{1,2}

1.中国科学院广州地球化学研究所, 有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640

2.中国科学院深部地球科学卓越研究中心, 广州 510640

3.中国科学院大学, 北京 100049

摘要 【意义】大环烷烃是一类具有单环结构但环碳数较大 ($n>10$) 的饱和脂肪烃类化合物, 在油页岩、原油、土壤及高等植物中均有检出。由于确切的生物母源信息, 大环烷烃的检出可以清晰地指示样品的原始沉积环境。【进展】大环烷烃碳数范围不固定, 与长链烷基烯烃、烷基环己烷等化合物相比, 不仅在色谱上具有相同的等间距流出特征, 而且它们的质谱分子离子 (C_nH_{2n}) 和特征碎片离子 (m/z 97、111、125) 也一模一样。因此在实际工作中容易造成化合物鉴定的混淆和误解, 需要对大环烷烃类化合物特征结构进一步明确。【结论与展望】回顾了该类化合物的鉴定识别特征、生物母源及其前驱物等研究成果, 开展了对澳大利亚悉尼盆地藻蚀煤 (torbanite) 样品提纯单体化合物的 NMR 结构鉴定工作, 充分肯定了大环烷烃类化合物的结构; 并以环己烷的碎片断裂机理为基础, 解释了该类化合物的特征碎片断裂机理, 有助于未来对大环烷烃类化合物的识别和鉴定; 最后汇总了大环烷烃类生物标志物可能的生物化学合成途径。上述工作为后续开展更系统性的鉴定工作, 同时有助于更好地认识其母源和前驱物。

关键词 大环烷烃类化合物; torbanite; NMR 结构鉴定; 质谱碎片断裂规律; 生物化学合成途径

第一作者简介 孟宪新, 男, 1997 年出生, 博士研究生, 有机地球化学, E-mail: mengxianxin@gig.ac.cn

通信作者 卢鸿, 男, 研究员, E-mail: luhong@gig.ac.cn

中图分类号 P618.13 **文献标志码** A

0 引言

地质体中常见的环状化合物, 根据环数可分为单环类和多环类化合物。前者包括六元环为骨架的长链烷基环己烷和轻烃中以五元环为骨架的甲基环戊烷等, 后者主要是甾烷和藿烷类等生物标志物。环烷烃 (C_nH_{2n}) 是单环类化合物中比较特殊的一类化合物, 其仅含有一个碳环且没有支链和不饱和键。通常环烷烃的环碳数较小 ($n\leq 10$), 例如常见的环辛烷仅具有 8 个环碳数; 环碳数较大 ($n>10$) 的则被称为大环烷烃类化合物 (macrocyclic alkanes)。由于地质样品的大环烷烃类化合物常被视为丛粒藻 (*Botryococcus braunii*) 的特征生物标志化合物, 因此大环烷烃类化合物的检出常常指示淡水或半咸水的沉积环境^[1-3], 其相关比值参数被用于母源追溯^[4], 还能为原油有机质类型判断提供额外的信息^[5-6]。

大环烷烃一词的出现, 最早可追溯至有关岩高兰 (*Empetrum nigrum*) 的研究, 研究人员在其果实 (crowberry) 的萃取物中鉴定出了环二十四烷 (cyclotetracosane) 至环三十二烷 (cyclodotriacontane) 的偶碳数环烷烃 (奇碳数的环烷烃未检出), 这种大环、单环的饱和

收稿日期: 2023-11-27; 收修改稿日期: 2022-02-26

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项 A 类 (XDA14010102); 国家自然科学基金项目 (41973069, 41673045) [Foundation: The Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences, No. XDA14010102; National Natural Science Foundation of China, No. 41973069, 41673045]

脂肪烃, 被命名为大环烷烃^[7]。随后, 通过质谱特征对比, 环十二烷和环十四烷在韩国的绿茶花 (*Green tea flower*) 萃取物中被检出^[8], 类似的化合物在西伯利亚的贯叶连翘提取物 (*Hypericum perforatum L.*)^[9]、菲律宾无花果 (*Ficus nota and Ficus ulmifolia*) 的油籽萃取物^[10]中也有报道。除了植物中大环烷烃的报道之外, Müürisepp *et al.*^[11]在 1994 年首次报道了沉积物质 (爱沙尼亚油页岩) 中存在非类异戊二烯类大环烷烃, 并在半焦化油的非芳香烃成烃作用中初步鉴定出环十二烷 (cyclododecane) 和环十六烷 (cyclohexadecane)。后续在南中国至北蒙古的土壤中也报道了 C₁₈~C₂₂ 偶碳数的大环烷烃类化合物 (及其甲基取代物)^[4]。除了偶碳数的大环烷烃外, 还有一类碳数连续的大环烷烃也在一些地质样品中被陆续报道。Audino *et al.*^[12]利用人工合成的环十五烷 (cyclopentadecane) 标样与样品共注的办法, 根据保留时间和质谱特征比对, 在苏格兰 Torbane Hill 的 torbanite (富集丛粒藻的沉积油页岩) 样品中, 检出了碳数连续的大环烷烃类化合物 (C₁₅~C₃₄) 及其甲基取代物 (C₁₇~C₂₆)。这种碳数连续的大环烷烃之后在丛粒藻来源的地质样品中获得了进一步的连续报道: 澳大利亚原油和淡水沉积物^[13]、印度尼西亚的原油^[14]和南非及澳大利亚油页岩^[15]。因此被广泛认可并被确认为丛粒藻的标志性化合物^[12-16]。然而该类化合物在沉积有机质、石油和油页岩等地质样品中的检出多依靠气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用手段, 根据其特征离子碎片 *m/z* 111 并结合分子量来进行鉴定, 这种方法很容易与单烯烃类 (mono-olefins) 和烷基环己烷^[17]等化合物相混淆, 除此之外还存在着质谱断裂碎片机理不易理解的情况。亟须通过文献综述的方式梳理总结前人有关大环烷烃类化合物的研究实例, 对大环烷烃类化合物的特征结构和生物标志化合物意义进行总结说明。

因此对大环烷烃类化合物的相关研究进行了回顾与总结, 结合对澳大利亚 torbanite 样品中大环烷烃的核磁 (NMR) 结构鉴定工作, 明确了大环烷烃类化合物的结构, 根据结构特征提出了该类化合物的质谱碎片断裂机理。并从生物母源着手, 对其生物化学合成途径进行了合理解释, 以期推动该类化合物进一步系统性的鉴定工作, 以及在地质学中的实际应用研究。

1 大环烷烃类化合物的分布特征与鉴定

报道检出大环烷烃类化合物的高等植物可以分布在热带^[10]至温带^[8]等不同纬度地区, 具体样品包括植物果实^[7]、种子^[10]和花朵^[8]等。地质样品中, 大环烷烃类化合物在晚石炭到晚二叠的不同地理位置 (英格兰、南非、澳大利亚) 和不同古气候条件下 (温冷、冰河、湿热气候) 的 torbanite 样品中均有检出^[12,15-16], 可见其地理位置和气候带上的分布较广, 具有一定的普遍性。

前人的研究工作表明大环烷烃类化合物在自然界植物和地质样品中的碳数分布明显不同 (表 1): 在高等植物中常以偶碳数的形式被检出 (岩高兰果实提取物为 C₂₄~C₃₂; 绿茶花朵提取物中为 C₁₂、C₁₄; 无花果种子油中为 C₂₄~C₃₀)^[7-8,10]; 而在沉积有机质和原油中则以

连续碳数的形式产出^[12-16]，碳数分布较广（ $C_{15}\sim C_{34}$ ），且存在相应的甲基同系物^[12-14,16]。除此之外，在现代国内不同气候下收集的土壤中，还能鉴定出来一类与上述分布不同的大环烷烃^[4]，其环碳数分别为 C_{18} 、 C_{20} 、 C_{22} ，似乎与高等植物中发现的大环烷烃类似（均为偶碳数），但是样品中还存在着三个化合物的甲基同系物，这又与沉积有机质中大环烷烃的碳数特征相似，被认为是土壤复杂母质来源所导致的结果。

表 1 大环烷烃类化合物鉴定方法及其分布
Table 1 Occurrences and identification of macrocyclic alkanes

样品	大环烷烃碳数分布	鉴定方法	参考文献
<i>E. nigrum L.</i>	偶碳数 $C_{24}\sim C_{32}$	IR、NMR、GC-MS	[7]
Green tea flower	C_{12} 、 C_{14}	GC-MS	[8]
Seed oil of <i>Ficus</i>	偶碳数 $C_{24}\sim C_{30}$	GC-MS	[10]
Torbanite	$C_{15}\sim C_{34}$	GC-MS	[12]
Torbanite	$C_{16}\sim C_{24}$	GC-MS	[15]
Oil and sediment	$C_{15}\sim C_{34}$	GC-MS	[13]
Duri oil and Minas oil	$C_{15}\sim C_{34}$	GC-MS-MRM	[14]
Modern soils of China	C_{18} 、 C_{20} 、 C_{22}	GC-MS	[4]
Torbanite	$C_{16}\sim C_{28}$	GC-MS	[16]

大环烷烃类化合物分布在样品抽提物的饱和烃组分中，由于其在原油和沉积物抽提物中的含量较低，根据其结构上的特殊性，常利用尿素络合和分子筛^[18]的方法对该类化合物进行相对富集。在澳大利亚悉尼盆地 torbanite 沥青中，部分大环烷烃类化合物的丰度要明显高于同碳数的正构烷烃（图 1a），这种现象少有报道。对饱和烃组分进行尿素络合实验以去除正构烷烃的影响（图 1b），结果显示大环烷烃的碳数分布在 $C_{14}\sim C_{31}$ ，主峰碳为 C_{20} 。根据色谱出峰时间的相关关系以及质谱特征，还能鉴定出对应的甲基大环烷烃，碳数分布在 $C_{16}\sim C_{28}$ （即甲基环十五烷至甲基环二十七烷），丰度最高的是甲基环二十烷。此外，在饱和烃总离子流图（TIC，图 1a）中，大环烷烃均呈现出等间距分布的特征，相邻的正构烷烃和大环烷烃碳数相差为 1，大环烷烃的甲基同系物紧跟大环烷烃出峰（图 1b）。这种流出顺序与常见的烷基环己烷、烷基烯烃存在明显的差异：长链烯烃与烷基环己烷均紧随相同碳数的正构烷烃出峰。以环十七烷为例，其出峰顺序依次为：正构十七烷（ $n-C_{17}$ ），正十七烯（heptadecene），正十一烷基环己烷（undecylcyclohexane），正构十八烷（ $n-C_{18}$ ），环十七烷（cycloheptadecane），甲基环十七烷（methylcycloheptadecane）。除此之外，TIC 中还显示藿烷类化合物丰度较高，说明样品可能发生了没有明显“UCM”鼓包的微生物降解，导致正构烷烃和类异戊二烯烷烃丰度偏低，补身烷（drimanes）类化合物作为微生物降解的产物同样显示出较高的丰度^[15,19-20]。

在 GC-MS 分析中通过 m/z 111 选择离子图（SIM）可以清晰地提取出大环烷烃类化合物及其甲基同系物，通过 GC-FIMS（色谱—场电离质谱）获得更准确的大环烷烃分子量信息。进一步研究发现大环烷烃类化合物的质谱特征较为明显：一般具有连续的特征碎片离子 m/z 69、83、97、111、125、139...，通常以 m/z 97、111、125 较高为显著特征，分子离子峰 C_nH_{2n}

显示出较高丰度, 除此之外还存在一个丰度较高的 M^+-28 特征离子碎片峰。这些特征与长链烷基环己烷^[21]以及长链烯烃^[22]等化合物的鉴定特征容易混淆。以环二十一烷和环二十二烷为例, 其质谱图(图 2a, b)中可见: 在低碳数碎片中以奇数特征离子碎片(m/z 97、111、125)为主, 而在高碳数碎片中除分子离子和特征离子 M^+-28 之外, 还出现了较多的偶数碎片离子(如环二十二烷中出现了 m/z 222、236、250, 图 2b)。这些偶数碎片离子在前人鉴定工作中也有出现, 如环二十一烷为 m/z 182、222、208、236^[12], 环三十二烷为 m/z 336、364、392^[7]。但是, 该偶数碎片离子实际上是呈偶数为中间峰的三簇峰, 分子离子峰附近的偶数碎片离子($[M-C_nH_{2n}]^+$ 和 $[M-C_nH_{2n+2}]^+$)的丰度比远离分子离子峰的偶数碎片离子强度更高, 这一现象表明丰度较高的偶数碎片离子强度受到了分子离子峰的影响。

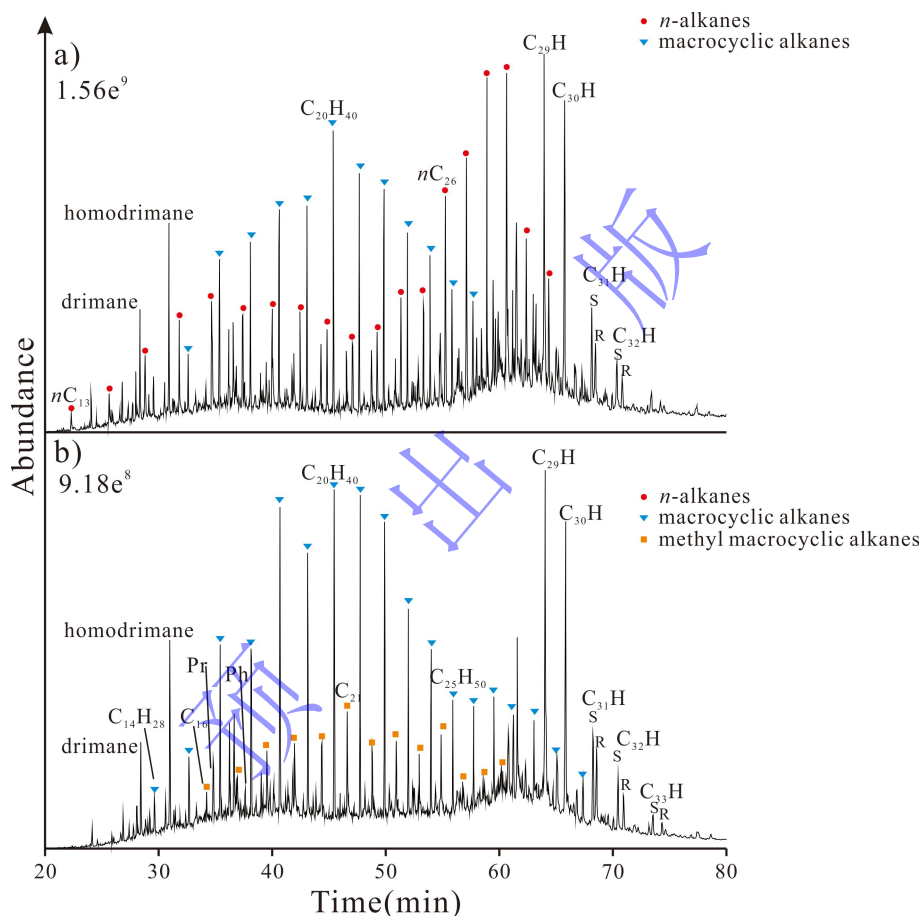


图 1 澳大利亚 torbanite 样品中饱和烃馏分尿素络合前后总离子流图

(a) 尿素络合前饱和烃总离子流图; (b) 尿素络合后支链与环烷烃总离子流图

Fig.1 TIC chromatograms of the saturated hydrocarbon before and after urea-excluded of torbanite extracts

(a) TIC of original fraction; (b) TIC of branched/cyclic alkanes fraction after urea-excluded

鉴于大环烷烃在饱和烃馏分中丰度较高, 其碎片离子特征和结构存疑。为了进一步核对应大环烷烃类化合物的结构, 通过制备级色谱(pGC)^[23], 对尿素络合去除正构烷烃的支链与环烷烃馏分进行高纯单体目标化合物收集, 以用于核磁结构鉴定研究。NMR 分析结果显示(图 3), 两个目标化合物的核磁氢谱、碳谱均仅出现单峰形式的样品峰(其化学位移分别为: $C_{21}H_{42}$: 1.31 ppm, 28.39 ppm; $C_{22}H_{44}$: 1.31 ppm, 28.31 ppm), 表明其 H、C 类型仅存在一种, 只能被解释为亚甲基($-CH_2-$), 表明化合物仅由亚甲基组成, 与环状化合物的结

构特征相吻合。两个目标化合物的核磁数据与前人在岩高兰中鉴定的大环烷烃（环三十二烷: 1.26 ppm 和 29.7 ppm）^[7]以及人工合成的大环烷烃（环十七烷: 1.31 ppm, 27.53 ppm; 环二十一烷: 1.29 ppm, 28.39 ppm）^[24]大致相同，证明目标化合物确为单元环的饱和脂肪烃，即大环烷烃类化合物。

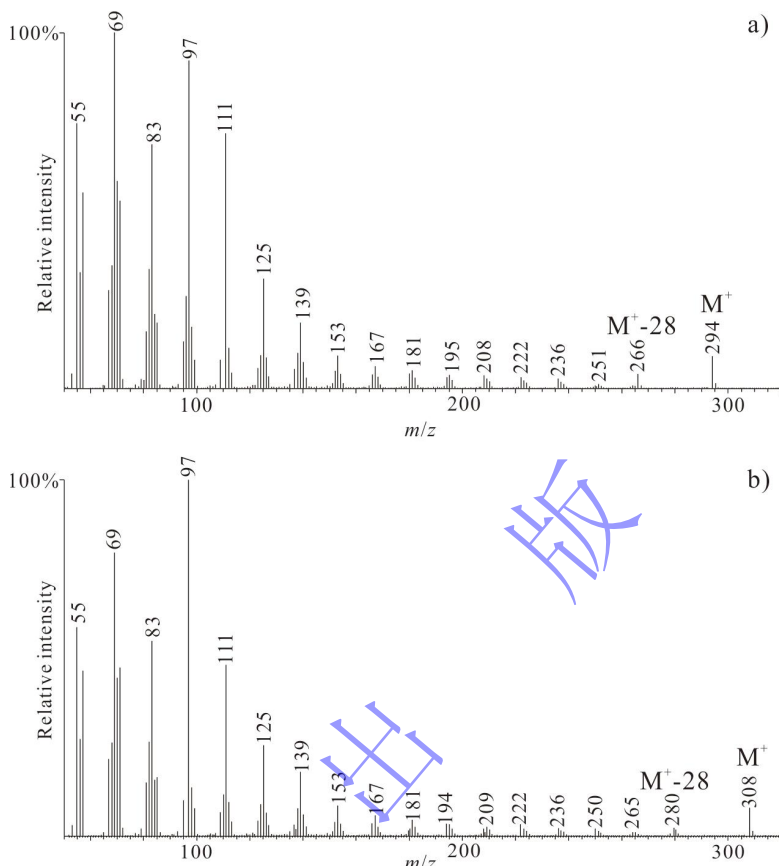


图2 澳大利亚 torbanite 样品中大环烷烃质谱图
(a) 环二十一烷; (b) 环二十二烷

Fig.2 Mass spectra of macrocyclic alkanes
(a) C₂₁H₄₂; (b) C₂₂H₄₄

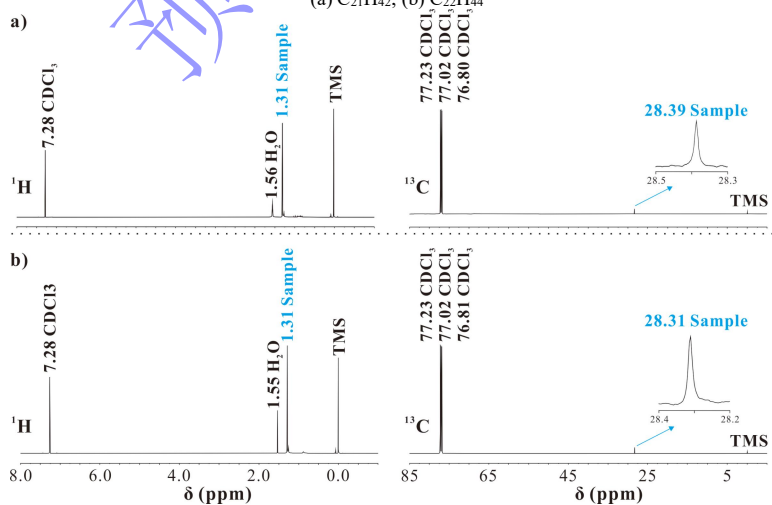


图3 提纯后的大环烷烃类化合物核磁氢谱及碳谱分析结果 (TMS:四甲基硅烷内标)
(a) 环二十一烷; (b) 环二十二烷

Fig.3 ¹H and ¹³C NMR spectra of macrocyclic alkanes (TMS: internal standard of tetramethylsilane)
(a) C₂₁H₄₂; (b) C₂₂H₄₄

2 大环烷烃类化合物的质谱断裂机理

大环烷烃类化合物的相关研究^[4,7-16]并未对其质谱碎片断裂机理进行解析说明。鉴于大环烷烃类化合物特殊的结构，欲进行碎片机理解析，只能借鉴常见的环戊烷、环己烷或环辛烷等低碳数的单环烷烃的质谱碎片机理对其进行解析。对这些常见的单环烷烃 ($n \leq 10$) 而言，由于其各个环碳的空间位置及化学键性质都一样，因此在质谱中经受高能电子轰击后任意两个键的简单断裂^[25-27]，伴随着质子转移就可以形成相应的碎片离子。这里存在两种情况：(1) 环开裂后，分子离子发生 α -断裂^[28]或置换反应 (Displacement Reaction, RD) ^[29-31]，会产生 $[M-C_2H_4]^+$ 的碎片离子及 $[M-C_nH_{2n}]^+$ ($n=3, 4, \dots$) 奇电子离子系列；(2) 开环后发生氢重排，接着发生 RD 反应，产生 $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ ($n=1, 2, 3, \dots$) 偶电子离子系列^[31]。

然而目前 RD 反应一般用于解释 4~7 元环中带有杂原子的偶电子离子形成稳定阳离子的过程 (如氧离子等) ^[30]，或者是更大的环的中间体 (larger cyclic intermediates) ^[32-33]。同时，这种断裂方式往往用于化学电离 (CI) 质谱而非电子电离质谱 (EI) 的碎片机理解释中^[29-30]。因此，RD 反应并不适用于大环烷烃类化合物的质谱断裂机理。

相较于 RD 反应，简单的 α -或 i -断裂方式可能更适用饱和单环烷烃的质谱断裂机理。例如在环己烷的质谱断裂模式 (图 4a) 中可以解释为：环己烷的分子离子经过 α -断裂^[28]或 i -断裂^[31,34-35]之后，C—C 键打开产生特征离子碎片 $[M-C_2H_4]^+$ (m/z 56，失去一个 C_2H_4 中性分子)，之后特征离子失去一个取代基 (如 $\cdot H$) 会产生偶数电子离子 (即 $C_4H_7^+$) ^[26]。该断裂模式可以很容易地解释环己烷质谱中丰度较高的 M^+-28 ($[M-C_2H_4]^+$) 特征离子。而随着环碳数的不断增大，相较于环己烷等环数较小 ($n \leq 10$) 的单环烷烃，环烷烃质谱中的 M^+-28 特征离子峰已经不能保持绝对的丰度优势，从而表现出分子离子峰高于 M^+-28 离子峰。这很有可能是由于碎片离子发生二次或多次断裂所致，其分子离子更难发生 α - β 键断裂得以更好地保留，导致分子离子峰出现较高丰度。

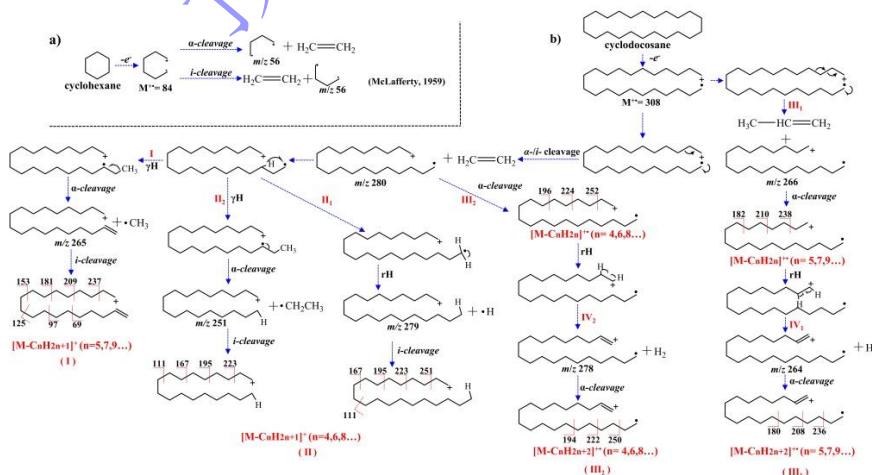


图 4 大环烷烃类化合物的碎片离子质谱断裂机理解析

(a) 环己烷; (b) 环二十二烷

Fig.4 Fragmentation pathways of macrocyclic alkanes

(a) cyclohexane; (b) cyclodocosane

以上述环己烷的质谱断裂模式为基础,结合实际样品中大环烷烃类化合物的实际碎片离子相对丰度(图2),可以推测出该类化合物的断裂模式(图4b):大环烷烃受电子轰击后立即发生 σ 键断裂,产生相应的超激发态的开环分子离子(M^+),之后分子离子发生 β - γ 键断裂(α -或*i*-断裂)后产生 $[M-C_2H_4]^+$ 的碎片离子(M^+-28)^[26,36]。之后, M^+-28 碎片离子直接发生氢重排^[28],再发生 α -或*i*-断裂(图4b-I,II)生成 $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ 的奇数碎片离子(m/z 69、83、97、111、125...)。或如图4b-III所示, M^+-28 的碎片离子(或丰度较低的 M^+-42 碎片离子)直接发生 α -断裂(产生 $[M-C_nH_{2n}]^+$)。当然,后者(III)也可以进一步解释(图4b-IV)为: $[M-C_nH_{2n}]^+$ 的碎片离子经过氢重排及后续的 α -断裂而产生 $[M-C_nH_{2n+2}]^+$ 偶数碎片离子(m/z 68、82、96、110、124...)。

综上, $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ 的碎片离子可通过三种方式形成:第一种(图4b-I), M^+-28 碎片离子发生 γ H重排后,经由 α -和*i*-断裂产生 $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ ($n=5、7、9...$)的碎片离子;第二种(图4b-II₁), M^+-28 的碎片离子失去一个取代基($\cdot H$)后,经*i*-断裂后产生对应的 $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ ($n=4、6、8...$);第三种(图4b-II₂)与第一种断裂模式相似,不同的是其在氢重排后失去了偶碳数的烷基自由基(如 CH_2CH_3),这种模式亦可以产生 $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ ($n=4、6、8...$)的碎片离子。这三种断裂模式可以很好地解释大环烷烃类化合物中的奇数特征碎片离子(m/z 69、83、97、111、125...)。

在此基础上,可以更好地理解分子离子峰附近的偶数碎片离子(如1C中的 m/z 208、222、236)及其三簇峰形式,可通过图4b-III和IV解释如下:如图4b-III₂所示, M^+-28 的碎片离子直接发生 α -断裂,产生 $[M-C_nH_{2n}]^+$ ($n=4、6、8...$)的碎片离子,这些碎片离子再经过 α -裂解后将产生对应的 $[M-C_nH_{2n+2}]^+$ ($n=4、6、8...$)的碎片离子;另外,分子离子也可能在脱去一个中性分子($CH_3CH=CH_2$)后,再发生与4B-III₂相似的断裂反应,从而产生 $[M-C_nH_{2n}]^+$ ($n=5、7、9...$)的碎片离子,这些碎片离子进一步发生 α -断裂产生对应的 $[M-C_nH_{2n+2}]^+$ ($n=5、7、9...$)的碎片离子。因此, $[M-C_nH_{2n}]^+$ 及 $[M-C_nH_{2n+2}]^+$ 这两种碎片离子,可以很好地解释大环烷烃质谱中出现的偶数碎片离子。

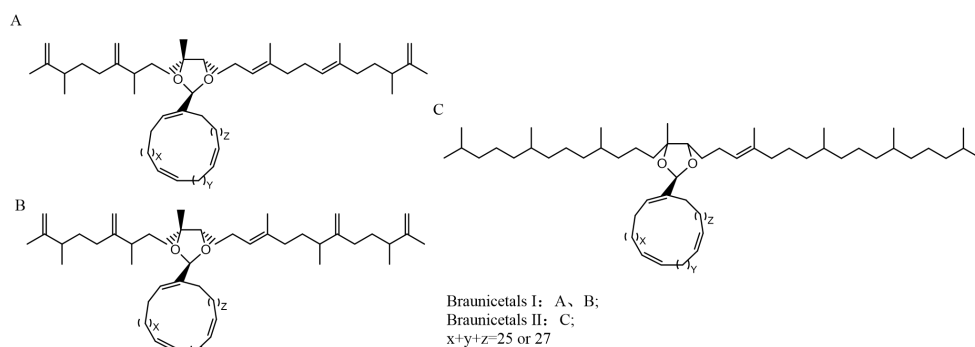
经过上述可能发生的碎片断裂模式,最终导致大环烷烃质谱中出现三类碎片离子,其相对丰度由高到低分别为: $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ 、 $[M-C_nH_{2n+2}]^+$ 、 $[M-C_nH_{2n}]^+$ 。其中, $[M-C_nH_{2n+1}]^+$ 的产生与氢重排之后的*i*-断裂有关;而偶数自由基($[M-C_nH_{2n+2}]^+$ 和 $[M-C_nH_{2n}]^+$)则很大程度上受到了 α -断裂的影响。通过机理解析有助于我们理解出现在大环烷烃类化合物中的碎片离子特征并进行其化合物类型鉴定。

3 大环烷烃类化合物的生源及其生物化学合成途径

石油中的生物标志物大多是多环的,通常是基于五碳或六碳环。然而,不以类异戊二烯(即非类异戊二烯类)为基础的大环烷烃体系很少被报道,其独特的结构(单环,碳数较大),在生物体中几乎没有相应的生物合成途径直接进行解释。

前人在苏格兰 Torbane Hill 和澳大利亚 Sydney 盆地等地区 torbanite 样品中报道的大环烷烃（及其甲基同系物），其碳数呈连续和较广的分布，因较好的相关性被认为是同一种生物来源^[12,15-16]。虽然在高等植物中亦检出了大环烷烃类化合物^[7-10]，但是由于高等植物中大环烷烃类化合物的碳数分布显著不同，证明 torbanite 中的大环烷烃并非高等植物来源。Audino *et al.*^[13-14]先后在丛粒藻有机质输入的沉积物（L 属丛粒藻）和原油（B 属丛粒藻）中发现了碳数相同的大环烷烃系列化合物，证明大环烷烃来源于丛粒藻。尽管目前没有结构与大环烷烃相似的生物前体被报道^[37]，但是通过大环烷烃的碳数分布以及样品中分布的大量丛粒藻化石的特性，大环烷烃类化合物被认为是直接来源于丛粒藻的偶碳数不饱和醛（Botryals）或是丛粒藻强烈非自养再造作用的结果^[12-15,38]。后续研究中，碳同位素数据为母源—产物的联系提供了可靠证据：Grice *et al.*^[15]在丛粒藻富集的 torbanite 样品中，发现高丰度的大环烷烃类化合物的单体碳同位素值与正构烷烃碳同位素值相近并异常偏重（近 -20‰^[15]，最高可达 -16‰^[16]），证明这两种化合物具有相同的生物来源。其中，正构烷烃通过丛粒藻的藻质素生物大分子（algaenan）在埋藏阶段经过碳—碳键断裂^[14]，或长链脂肪酸（如油酸，藻质素的前体）发生脱羧反应^[39]形成，但显然正构烷烃的形成机制并不适用于大环烷烃类化合物。

在生物体中寻找可信的生物前身物（biota-precursor）可以为大环烷烃类化合物的生物合成途径提供更为直接的生物学证据。近年来，两个系列的特殊大环类化合物（图 5）在人工培育的丛粒藻（B 属和 L 属）中被发现，并通过 NMR 等手段进行了结构确认，被命名为 braunicetals^[40]。该两类大分子化合物（braunicetals，分子量较大，最高可达 966）的发现似乎为大环烷烃前体提供了直观的解释，进而有充分的生物母源—生物前身物证据支持并建立丛粒藻和大环烷烃类化合物之间的联系：两类 braunicetals 的不饱和大环醛部分形似大环烷烃，在地质过程中简单的支链脱落即可形成大环烷烃（经由双键还原），其支链部分脱落下来就是 B 属中的 botryococcene/botryococcane，或者是 L 属中的 C₄₀ lycopene/lycopane。然而由于 Metzger *et al.*^[38]发现的这些大环三烯类化合物（macrocylic aldehydes，braunicetals 的大环部分）的环碳数分布较窄（仅发现 C₃₁ 和 C₃₃ 环），只能解释地质体中大环烷烃类化合物的部分最大碳数，无法合理解释大环烷烃类化合物较大的连续碳数分布（C₁₅~C₃₄）及其甲基取代物（C₁₇~C₂₆）。但是 Braunicetals 的发现表明丛粒藻生物体内确实存在着一种通过不断复制而形成环数不断增大的生物分子的过程，而这个过程可以解释 torbanite 中丰富的大环类化合物的检出。

图5 两种系列 Braunicetals 的结构示意图^[40]Fig.5 Molecular structures of two types of Braunicetals^[40]

环化作用（cyclization）是最简单的形成大环类化合物的生物合成反应，其在丛粒藻生长过程可能大量发生^[41]，但是碳数连续的大环烷烃却未在大多数的丛粒藻活体中出现^[40]，这意味着丛粒藻的生物环化作用并不是大环烷烃类化合物的形成机制。在研究 torbanite 热解产物时，有学者认为不饱和聚醛（polyaldehyde，由油酸转变形成的藻质素前体化合物^[42-43]）裂解时可以通过烯丙基断裂及其随后的环化作用，进而形成长链烷基环己烷的环己烷部分^[22]。然而，聚醛环化作用虽然可以形成环己烷的六元环^[41]，但是却难以解释大环烷烃及其甲基同系物碳数分布不一的特征。因此这种机制并不适用于大环烷烃类化合物的生物合成途径，但从饱和聚醛转变为大环烷烃类化合物确实存在着可能性。根据这种机制：Audino *et al.*^[14]认为在成岩过程中长链饱和聚醛发生闭环的烯烃复分解反应（olefin metathesis reaction）可以形成碳数分布较广的大环烷烃类化合物。这种烯烃复分解形成大环烷烃的过程在人工合成实验中得到了证实^[24,45-46]：实验通过环辛烷在催化剂 $[(=SiO)W(Me)_5]$ 作用下通过一系列的开环复分解聚合（ROMP）、闭环复分解（RCM）反应最终形成 $C_{12}\sim C_{40}$ 的大环烷烃。其中人工合成实验所涉及到的长链双烯通过烯烃复分解成大环烷烃的过程，为其生物合成途径间接提供了机理上的可行性。

基于上述分析和相关文献支持，可以较为合理地推测出大环烷烃可能的生物合成途径（图6）：丛粒藻产生的油酸（oleic acid）氧化形成对称的 C_{18} 二酸（ $n-C_{18}$ diacid），再延展脱氢形成 C_{32} 长链双不饱和脂肪酸（ C_{32} diunsaturated fatty diacids）。不饱和二酸衍生的二醛类化合物（ $n-C_{32}$ dialdehyde）通过分子内缩聚形成 C_{31} 的大环醛类化合物（31-membered macrocyclic aldehydes）或长链饱和聚醛（polyaldehydes）。其中，长链饱和聚醛经由醛醇缩合反应（aldol reaction）形成长链一元醛（monoaldehyde），再经由脱羧反应、烯烃复分解反应后被还原为对应的大环烷烃。一元醛直接发生烯烃复分解反应再发生还原反应则形成对应的甲基大环烷烃。在此过程中，正构烷烃可由油酸直接脱羧加氢反应产生，也可以由长链饱和聚醛缩合脱水形成藻质素（algaenan），再通过藻质素中碳—碳键断裂形成。这两种形成正构烷烃的方式涉及到的生物前体与大环烷烃一致，因而，可以解释 Grice *et al.*^[15]在实验中发现的正构烷烃碳同位素与大环烷烃接近的现象。

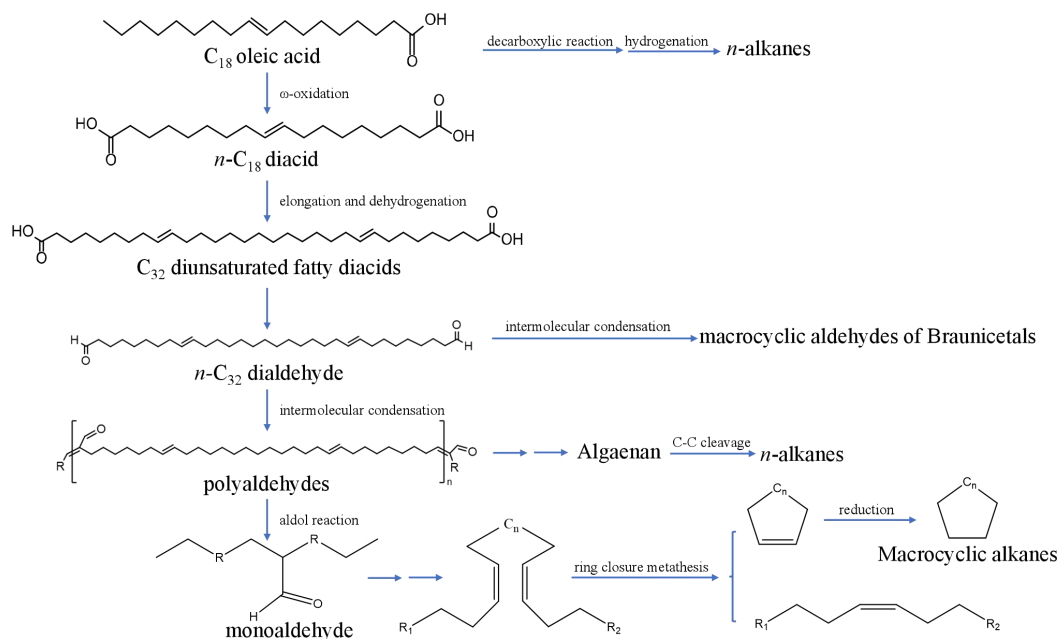


图6 大环烷烃类化合物可能的生物合成途径^[14, 39-40, 42-43], 其中 monoaldehyde 中的 R:

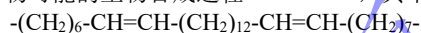
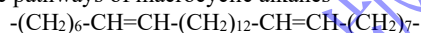


Fig.6 Possible biosynthetic pathways of macrocyclic alkanes^[14, 39-40, 42-43]. The R in monoaldehyde:



4 结论与展望

大环烷烃类化合物的检出可以有力地指示有机质的原始沉积环境。其特殊的单体饱和环烷烃结构可以通过 GC-MS、NMR 等手段进行确定, 明确的化学结构可以对其色谱、质谱特征进行解释, 以区分几类在鉴定过程中易与大环烷烃类化合物相混淆的生物标志化合物。从粒藻来源的大环烷烃类化合物最初的生物前体可能是长链的油酸, 其通过一系列的氧化、延展脱氢、缩聚等机制转化为长链不饱和聚醛, 再经由醛醇缩合、脱羧、烯烃复分解反应最终形成大环烷烃类化合物及其甲基取代物。大环烷烃类化合物作为一种特殊的丛粒藻生物标志化合物, 可以提供丛粒藻藻质素在原油、沉积物中保留的原始生物信息。未来, 针对这种独特的生物标志化合物可以在以下方面进行进一步发展: (1) 对植物与丛粒藻来源的大环烷烃类化合物进行生物溯源上的比对, 以获得更完整的前体及生物合成途径信息, 从而对复杂来源的地质样品中检测出来的大环烷烃类化合物进行合理的生物母质来源判断; (2) 对大环烷烃类化合物本身相关比值参数进行系统归纳总结, 进一步应用于约束原油或沉积岩样品形成条件、母质来源等地球化学工作中; (3) 国内富含丛粒藻的地质样品(如茂名油页岩、鄂尔多斯延长组等)均没有报道相对应的大环烷烃类化合物, 因此开展国内外相似样品针对性、对比性研究, 进一步讨论该类化合物形成的沉积条件和其他影响因素, 从而完善其检出的生物、非生物地球化学意义, 为重建古环境提供更多信息。

致谢 感谢中国石化石油勘探开发研究院无锡石油地质研究所张志荣老师的样品支持, 中国石油大学(北京)史权、张亚合老师在化合物分子量测试上也给予了无私的支持; 同时感谢各位审稿专家在文章修改过程中提出的宝贵建议。

参考文献 (References)

- [1] Abogbila S, Grice K, Trinajstić K, et al. The significance of 24-norcholestanes, 4-methylsteranes and dinosteranes in oils and source-rocks from East Sirte Basin (Libya)[J]. *Applied Geochemistry*, 2011, 26 (9/10): 1694-1705.
- [2] Brooks J J, Summons R E. Sedimentary hydrocarbons, biomarkers for early life[J]. *Treatise on Geochemistry*, 2003, 8: 63-115.
- [3] Whiteside J H, Grice K. Biomarker records associated with mass extinction events[J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 2016, 44: 581-612.
- [4] Wang Y L, Fang X M, Bai Y, et al. Macrocyclic alkanes in modern soils of China[J]. *Organic Geochemistry*, 2006, 37(2): 146-151.
- [5] Wang Z D, Stout S A, Fingas M. Forensic fingerprinting of biomarkers for oil spill characterization and source identification[J]. *Environmental Forensics*, 2006, 7(2): 105-146.
- [6] Wang Z D, Yang C, Yang Z Y, et al. Petroleum biomarker fingerprinting for oil spill characterization and source identification[M]//Stout S A, Wang Z D. *Standard handbook oil spill environmental forensics*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2016: 131-254.
- [7] Red'kina N N, Bryanskii O V, Krasnov E A, et al. Components of plants of the Empetraceae family. III. Cycloalkanes from *Empetrum nigrum*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 1989, 25(5): 614-615.
- [8] Baik S O, Bock J Y, Han S B, et al. Analysis of volatile flavor constituents in Green Tea Flower[J]. *Analytical Science and Technology*, 1996, 9(4): 331-335.
- [9] Mimica-Dukić N, Ivančević-Tumbas I, Igić R, et al. The content and composition of essential oil of *Hypericum perforatum L.* from Serbia[J]. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 1998.
- [10] Knothe G, Razon L F, De Castro M E G. Fatty acids, triterpenes and cycloalkanes in ficus seed oils[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 135: 127-131.
- [11] Müürisep A M, Urov K, Liiv M, et al. A comparative study of non-aromatic hydrocarbons from Kukersite and dictyonema shale semicoking oils[J]. *Oil Shale*, 1994, 11(3): 211-216.
- [12] Audino M, Grice K, Alexander R, et al. Macrocyclic-alkanes: A new class of biomarker[J]. *Organic Geochemistry*, 2001, 32(5): 759-763.
- [13] Audino M, Grice K, Alexander R, et al. Macrocyclic alkanes: Markers for the freshwater alga *Botryococcus braunii* in the Gippsland Basin[J]. *The APPEA Journal*, 2002, 42(1): 437-441.
- [14] Audino M, Grice K, Alexander R, et al. Macrocyclic alkanes in crude oils from the algaenan of *Botryococcus braunii*[J]. *Organic Geochemistry*, 2002, 33(8): 979-984.
- [15] Grice K, Audino M, Boreham C J, et al. Distributions and stable carbon isotopic compositions of biomarkers in torbanites from different palaeogeographical locations[J]. *Organic Geochemistry*, 2001, 32(10): 1195-1210.
- [16] Zhang Z R, Volkman J K. Isotopically enriched *n*-alkane-2-ones with even chain predominance in a torbanite from the Sydney Basin, Australia[J]. *Organic Geochemistry*, 2020, 144: 104018.
- [17] Fu Y, Li W, Manheim J M, et al. Proton Affinities of Alkanes[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2022, 33(10): 1850-1857.
- [18] Audino M, Grice K, Alexander R, et al. Macrocyclic alkanes in crude oils and sediment extracts: Enrichment using molecular sieves[J]. *Organic Geochemistry*, 2004, 35(5): 661-663.
- [19] Püttmann W, Villar H. Occurrence and geochemical significance of 1,2,5,6-tetramethylnaphthalene[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 1987, 51(11): 3023-3029.
- [20] Killops S D. Novel aromatic hydrocarbons of probable bacterial origin in a Jurassic lacustrine sequence[J]. *Organic Geochemistry*, 1991, 17(1): 25-36.
- [21] Derenne S, Largeau C, Casadevall E, et al. Comparison of torbanites of various origins and evolutionary stages. Bacterial contribution to their formation. Causes of the lack of botryococcane in bitumens[J]. *Organic Geochemistry*, 1988, 12(1): 43-59.
- [22] Gelin F, De Leeuw J W, Damsté J S S, et al. The similarity of chemical structures of soluble aliphatic polyaldehyde and insoluble algaenan in the green microalga *Botryococcus braunii* race A as revealed by analytical pyrolysis[J]. *Organic Geochemistry*, 1994, 21(5): 423-435.
- [23] Zuo H L, Yang F Q, Huang W H, et al. Preparative gas chromatography and its applications[J]. *Journal of Chromatographic Science*, 2013, 51(7): 704-715.
- [24] Riache N, Callens E, Samantaray M K, et al. Cyclooctane metathesis catalyzed by silica - supported tungsten pentamethyl [(=SiO)W(Me)₅]: Distribution of macrocyclic alkanes[J]. *Chemistry—A European Journal*, 2014, 20(46): 15089-15094.
- [25] Stevenson D P. The mass spectra of methylcyclopentane and methyl-C¹³-cyclopentane[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1958, 80(7): 1571-1573.
- [26] McLafferty F W. Mass spectrometric analysis. Molecular rearrangements[J]. *Analytical Chemistry*, 1959, 31(1): 82-87.
- [27] Abramson F P, Futrell J H. Mass-spectrometric investigation of ion-molecule reactions in cyclohexane[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1967, 71(12): 3791-3796.
- [28] McLafferty F W. *Mass spectrometry of organic ions*[M]. Pittsburgh: Academic Press, 1963: 55-59.
- [29] Lias S G, Viscomi A, Field F H. Chemical ionization mass spectra. XXI. Reactions in tert-pentyl chloride, tert-pentyl bromide, tert-pentyl alcohol, and tert-pentyl mercaptan[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1974, 96(2): 359-364.
- [30] McLafferty F W. Unimolecular decompositions of even - electron ions[J]. *Organic Mass Spectrometry*, 1980, 15(3): 114-121.
- [31] 王光辉, 熊少祥. 有机质谱解析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 41-44. [Wang Guanghui, Xiong Shaoxiang. *Organic matter spectrum analysis*[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 41-44.]
- [32] Dias J R, Djerassi C. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems—CCXVI: Anomalous cleavage ions in bifunctional compounds resulting from participative interaction[J]. *Organic Mass Spectrometry*, 1972, 6(4): 385-406.
- [33] Weinkam R J. Importance of intramolecular associations in the chemical ionization mass spectra of monoenoic and monoepoxy fatty acid methyl esters[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1974, 96(4): 1032-1037.
- [34] McLafferty F W. A generalized mechanism for mass spectral reactions[J]. *Chemical Communications (London)*, 1966(3): 78-80.
- [35] McLafferty F W, Turecek F. *Interpretation of mass spectra*[M]. 4th ed. Sausalito: University Science Books, 1993: 41-46.
- [36] Friedman L, Long F A. Mass spectra of six lactones[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1953, 75(12): 2832-2836.
- [37] Volkman J K. Acyclic isoprenoid biomarkers and evolution of biosynthetic pathways in green microalgae of the genus *Botryococcus*[J]. *Organic Geochemistry*, 2014, 75: 36-47.
- [38] Metzger P, Casadevall E. Botryals, even C₅₂-C₆₄ aldehydes from aldol condensation, in the a race of the green alga *botryococcus Braunii*[J]. *Tetrahedron Letters*, 1988, 29(23): 2831-2834.
- [39] Dong J Z, Vorkink W P, Lee M L. Origin of long-chain alkylcyclohexanes and alkylbenzenes in a coal-bed wax[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 1993, 57(4): 837-849.
- [40] Metzger P, Rager M N, Fosse C. Braunicetals: Acetals from condensation of macrocyclic aldehydes and terpene diols in *Botryococcus braunii*[J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(12): 2380-2386.
- [41] Grossi V, De Mesmay R, Bardoux G, et al. Contrasting variations in the structure and stable carbon isotopic composition of botryococcenes through the last glacial-interglacial transition in Lake Masoko (southern Tanzania) [J]. *Organic Geochemistry*, 2012, 43: 150-155.

- [42] Metzger P, Largeau C, Casadevall E. Lipids and macromolecular lipids of the hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii*. Chemical structure and biosynthesis. Geochemical and biotechnological importance[M]//Casadevall E, Chakraborty D P, Largeau C, et al. Fortschritte der chemie organischer naturstoffe/progress in the chemistry of organic natural products. Vienna: Springer, 1991: 1-70.
- [43] Metzger P, Pouet Y, Bischoff R, et al. An aliphatic polyaldehyde from *Botryococcus braunii* (A race)[J]. Phytochemistry, 1993, 32(4): 875-883.
- [44] Bertheas O, Metzger P, Largeau C. A high molecular weight complex lipid, aliphatic polyaldehyde tetraterpenediol polyacetal from *Botryococcus braunii* (L race)[J]. Phytochemistry, 1999, 50(1): 85-96.
- [45] Bielawski C W, Benitez D, Grubbs R H. An "endless" route to cyclic polymers[J]. Science, 2002, 297(5589): 2041-2044.
- [46] Haque F M, Grayson S M. The synthesis, properties and potential applications of cyclic polymers[J]. Nature Chemistry, 2020, 12(5): 433-444.

A Review of Macrocyclic Alkanes

MENG XianXin^{1,2,3}, LU Hong^{1,2}, AO Tian^{1,2,3}, PENG PingAn^{1,2}

1. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

2. CAS Center for Excellence in Deep Earth Science, Guangzhou 510640, China

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: [Significance] Macrocyclic alkanes are a type of saturated fatty hydrocarbons that have a single ring structure and large ring carbon numbers, which have been identified in oil shales, petroleum, soils, and higher plants. Because of the exact biota-precursor information, the identification of macrocyclic alkanes can be used to identify the original sedimentary environment. [Progress] However, the carbon number of macrocyclic alkanes with different samples exhibits significant differences, and the equidistant relative retention time is the same as those of the long chain alkyl olefin and alkyl cyclohexane in chromatograms, and the molecular ion (C_nH_{2n}) is same as that of olefin, which has a characteristic ion at m/z 97, 111, 125 in the mass spectra, and other compounds were similar. Therefore, confusion and misunderstanding often appear in actual identification. Thus, further clarification of the structure is necessary. [Conclusions and Prospects] On this basis, we reviewed the identification, biosynthetic pathways, and bio-precursors of macrocyclic alkanes and confirmed the structure of those compounds through nuclear magnetic resonance (NMR) analysis of purified monomer compounds in torbanite from Sydney Basin, Australia based on the fragmentation mechanism of cyclohexane doped from the fragmentation pathways of macrocyclic alkanes. Finally, using the different research results provided by predecessors, the possible biochemical synthesis pathway of macrocyclic alkanes was summarized to better further systematic identify macrocyclic alkanes and understand their parent material and bio-predecessor.

Key words: macrocyclic alkanes; torbanite; nuclear magnetic resonance (NMR) structure identification; mass spectrum (MS) fragmentation; biochemical synthesis pathway