

芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷的化学合成与应用*

王灼琛,李英波,凌铁军,张 雷,宛晓春,张正竹*

(安徽农业大学茶叶生物化学与生物技术教育部、农业部重点实验室,安徽合肥,230036)

摘 要 采用改进的 Helferich 法立体选择合成了芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷,合成路线比传统的 Koenigs-Knorr 法减少了一步,产物收率分别为 53%(3a)和 49%(3b),通过 LC/MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 等检测条件对产物结构进行了表征;添加芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷对低焦油卷烟的香味具有一定的补偿作用,但转化率很低,仅为 7.3%(3a)和 5.03%(3b);芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷对植物病原菌具有明显的抑制作用。

关键词 芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷,合成,表征,增香,抑菌

苯甲醇、苯乙醇属于芳基烷醇类化合物,具有愉快的甜蜜水果和类似玫瑰花香气,是茶叶和卷烟的主要香气成分,也是香精的常用主香剂,广泛应用于药物、烟草、日化用品等领域^[1]。因为芳基烷醇挥发性较强,高温加工条件下不稳定,导致留香时间短,在一定程度上限制了使用效果。芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷本身并无香气,而是作为芳基烷醇前体物质,天然存在于茶叶、烟草等植物中,在茶叶加工和烟草调制过程中,通过酶促水解或热裂解释放出香气^[2]。苯甲醇、苯乙醇等芳基烷醇对植物病原真菌具有很强的抑制作用,并且由于植物和真菌中均具有糖苷水解酶活性,可以将糖苷类物质水解释放出苷元,从而起到持久的抑菌效果^[3]。因此,芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷不仅能作为稳定的香味原料,也有望成为一类稳定长效的病原真菌抑制剂应用于生产实践中。本文采用改进的 Helferich 方法^[4]立体选择合成了 2 种芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷,对合成产物进行了结构鉴定,并尝试了这类化合物在卷烟增香和抑制植物病原真菌上的应用。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

高效液相色谱-质谱联用仪,美国热电费尼根(Thermo Finnigan)公司;AV400 核磁共振仪,美国 Bruker 公司;2010s GC/MS 气质联用仪,日本岛津公司;吸烟机,德国 Borgwaldt technic 公司吸烟机。

1.2 目标产物的合成

1.2.1 1,2,3,4,6-五-O-乙酰基- β -D-葡萄糖(1,见图

1)的合成^[5]

将 10 g 无水醋酸钠与 12.5 g 无水葡萄糖混合,加入到 62.5 mL 乙酸酐中,沸水浴加热 搅拌回流,2 h 后,将反应混合物倾入 500 mL 冰水中,搅拌约 3 h 后,析出结晶,再于乙醇中重结晶 2 次,干燥,得白色结晶 23.5 g,得率 87%,产品经质谱鉴定。

1.2.2 2,3,4,6-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖苷(2a、2b)的合成

将 1,2,3,4,6-五-O-乙酰基- β -D-葡萄糖(3.9 g, 10 mmol/L)与 10 mmol/L 1a(1b)(见图 1)加入到 20 mL 无水 CH_2Cl_2 中,再加入 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.25 mL, 10 mmol/L),室温下搅拌,反应 18 h 后,用 40 mL 质量分数 5% 的无水 NaHCO_3 萃取 2 次, NaHCO_3 液用水冲洗 2 次后于无水 Na_2SO_4 中干燥。减压蒸干得浅黄色油状物(2a),(2b),无需纯化,直接用于下一步反应。

1.2.3 苯甲(乙)醇- β -D-葡萄糖苷(3a,3b)的合成^[6]

将 4.5 mmol/L 2a(2b)溶解在 20 mL 三乙胺溶液[V(甲醇):V(三乙胺):V(水)=8:1:1]中,室温下搅拌,用硅胶板薄层层析检测产物的生成,反应结束后,减压蒸干,硅胶柱层析分离,丙酮重结晶,得白色晶体(3a)741 mg、(3b)716 mg,得率分别为 61%和 56%。

芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷的合成步骤如图 1 所示。

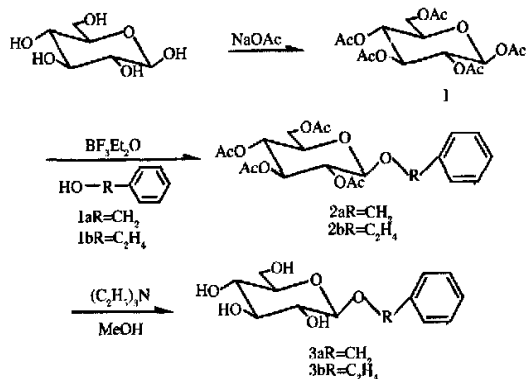
1.3 目标产物的纯化与结晶

采用硅胶柱层析分离目标产物。玻璃柱(80 cm \times 3 cm)填料为 200~300 目硅胶,湿法装柱,洗脱液为 V(氯仿):V(甲醇)为 15:1、12:1 和 10:1,分级洗脱,每 200 mL 收集一份,硅胶板薄层层析检测目标产物,将目标产物洗脱液合并后,浓缩,在丙酮中重结晶。

第一作者:博士研究生(张正竹为通讯作者)。

*安徽省自然科学基金项目(050410302)和安徽省人才培养和科研带头人专项基金项目研究内容之一

收稿日期:2007-03-14,改回日期:2007-08-02

图1 芳基烷醇- β -D-葡萄糖苷的合成步骤

1.4 芳基烷醇葡萄糖苷对卷烟的增香作用

1.4.1 加料卷烟的制备

合成产物 3a 和 3b 各 5 mg 分别溶于无水乙醇中,定容至 10 mL 备用。以“七匹狼”卷烟(福建龙岩卷烟厂生产)为供试材料,每支卷烟用注射器均匀注射 100 μ L 3a 或 3b 溶液,每 5 支 1 组,每组平行 2 次。对照组注射无水乙醇,置于 22 $^{\circ}$ C,60% 相对湿度的箱体中平衡 2 d。

1.4.2 卷烟的燃吸和焦油的提取

用 Borwalat technic 吸烟机,每 1 min 一吸,燃吸至烟头留 28 mm,焦油被吸附在 Cambridge 滤片上。滤片用 40 mL 二氯甲烷振荡 8 h,过滤后浓缩至 1 mL,取 1 μ L 进行气质联用分析。

1.5 芳基烷醇葡萄糖苷对植物病原真菌的抑制作用

1.5.1 培养基的制备

自制马铃薯葡萄糖培养基(PDA):将去皮的马铃薯称取 200 g 切成小块,加蒸馏水 1 000 mL,煮沸 20 min 后用双层纱布过滤去渣,取上清液定容至 1 000 mL,再加 20 g 琼脂粉,煮沸至完全融化后加葡

萄糖 20 g,搅拌融化后分装三角瓶,湿热灭菌后备用。

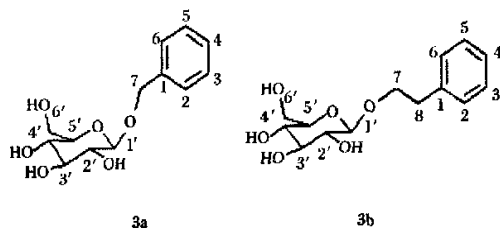
1.5.2 抑菌试验方法

从安徽农业大学教学茶园中分离鉴定的茶云纹叶枯病致病菌(*Colletotrichum Camelliae* Massee)于 PDA 斜面培养基活化 2~3 次,恢复其生长能力。将合成的芳基烷醇葡萄糖苷,用无菌水配制成不同浓度,与未凝固的 PDA 培养基混匀后,倒入培养皿(3.5 cm)中制作平板,使其终浓度分别为 5、10、20、40 mg/mL,待凝固后,用打孔器(直径 6 mm)在已经活化好的菌种菌落上打孔制备菌饼,用接种针将菌饼反面接种于各含芳基烷醇葡萄糖苷固体培养基的中央,每个培养皿接种一个菌饼,然后置于培养箱内 25 $^{\circ}$ C 恒温培养,每 24 h 取出培养皿测量菌落直径,每个菌落用十字交叉法测量两次直径,取平均值。以无菌水为对照,计算抑制生长百分率/%=[(对照直径-处理直径)/对照直径] \times 100。

2 结果与分析

2.1 合成产物的表征

合成目标产物 3a 和 3b 均为白色粉末,其分子结构如图 2 所示。NMR 数据列于表 1 中。

图2 合成产物苯甲醇- β -D-葡萄糖苷(3a)和苯乙醇- β -D-葡萄糖苷(3b)的分子结构表1 合成产物苯甲醇- β -D-葡萄糖苷(3a)和苯乙醇- β -D-葡萄糖苷(3b)的 ¹H 和 ¹³C-NMR 检测结果(氘代甲醇为溶剂)

位 置	苯甲醇- β -D-葡萄糖苷(3a)		苯乙醇- β -D-葡萄糖苷(3b)	
	δ_{H} (JinHz)	δ_{C}	δ_{H} (JinHz)	δ_{C}
1	-	139.06	-	140.02
2, 6	7.42 (7.6, br d)	129.26	7.26 (br s)	129.31
3, 5	7.33 (7.6, br t)	129.18	7.25 (br s)	129.98
4	7.27 (7.2 br t)	128.67	7.17 m	127.17
7a	4.93 (12.0 d)	71.74	4.09 (16.4, 8.0 br dd)	71.61
7b	4.67 (12.0 d)		3.76 (16.4, 8.0 br dd)	
8	-	-	2.94 (8.0 br t)	
1'	4.36 (7.6 d)	103.29	4.30 (8.0 d)	104.34
2'	3.23~3.38 m	75.13	3.19~3.37 m	75.05
3'	3.23~3.38 m	78.00	3.19~3.37 m	77.89
4'	3.23~3.38 m	71.70	3.19~3.37 m	71.66
5'	3.23~3.38 m	78.09	3.19~3.37 m	78.06
6'a	3.90 (12.0, br d)	62.82	3.86 (12.0 br d)	62.74
6'b	3.69 (12.0, 4.2 dd)		3.66 (12.0, 4.2 dd)	

表1中化合物3a和3b的核磁数据与文献^[7,8]一致。从¹³C NMR数据上看,α构型和β构型的葡萄糖苷,其化学位移值在芳香醇苷元碳原子上非常接近,而在葡萄糖碳原子上则有所区别,一般α构型葡萄糖苷比β构型的葡萄糖苷化学位移值低,尤其是端基异构碳原子,α构型葡萄糖苷端基异构碳原子化学位移通常在100 ppm以内,而β构型的葡萄糖苷>100 ppm^[8],由表1数据可见,合成的目标产物葡萄糖苷端基异构碳原子化学位移都>100 ppm(化合物3a为103.29 ppm,化合物3b为104.34 ppm),因此都为β构型。化合物3a的质谱分析结果m/z(%): 562.97(2M+Na⁺ 100)、293.35(M+Na⁺ 15.3)、288.21(M+NH₄⁺ 10.6);化合物3b的质谱分析结果m/z(%): 590.94(2M+Na⁺ 100)、307.35(M+Na⁺ 68.7)也和2种目标产物的分子结构相吻合。

2.2 合成条件优化

采用改进的 Helferich 合成方法,以葡萄糖为原料,官能团经保护-脱保护,以BF₃·Et₂O为催化剂,立体选择地合成了2种芳基烷醇-β-D-葡萄糖苷。该方法比传统的 Koenigs-Knorr^[4]方法减少了一步。以葡萄糖计算,目标产物最终得率分别为53%(3a)和49%(3b),高于文献报道的得率。在2,3,4,6-四-O-乙酰基-β-D-葡萄糖苷(2a、2b)的合成反应中,反应时间对产品得率有较大的影响,但当反应进行到18 h以后,产率基本无变化。此外,催化剂用量对产品得率无明显影响,相反,用量过多会加深产物的色泽。

2.3 燃吸过程中芳基烷醇葡萄糖苷的转移率

将化学合成的苯甲醇-β-D-葡萄糖苷(3a)和苯乙醇-β-D-葡萄糖苷(3b)添加到卷烟中,燃吸过程中,葡萄糖苷受热裂解,用GC/MS定量裂解释放到烟气中的苷元苯甲醇和苯乙醇含量变化,两者的转移率分别为7.3%和5.03%。说明在燃吸过程中,部分芳基烷醇葡萄糖苷受热裂解,形成了挥发性苷元,从而对卷烟烟气的香味产生了贡献。

糖苷类物质是烟草在生长发育过程中形成的次级代谢产物,以挥发物为苷元的糖苷类物质分解后释放的挥发物是烟草香味品质形成的重要途径。这就提示人们,将糖苷类香气前体作为加料液替代挥发性香料直接加到烟草中,裂解后释放的挥发性苷元直接成为香味成分,而生成的葡萄糖又可通过焦糖化反应形成烤烟香味成分,从而在一定程度上改善烟草特别是低焦油卷烟的香味品质。Georg等人^[9]研究了糖苷类香气前体提取物在燃吸过程中的增香作用,认为

燃吸过程中糖苷类并不是迅速完全裂解,而是缓慢释放苷元,从而使烟草香气浓度均匀。

由于实验中得出的芳基烷醇葡萄糖苷的转化率偏低,添加的芳基烷醇葡萄糖苷是否完全裂解,如何裂解,裂解后的产物是否又进一步发生了其他转化反应,这些问题都有待明确。前人的结果表明,香叶基-β-D-吡喃葡萄糖苷在200~400℃裂解条件下,不是通过无规断裂裂解方式裂解,而是遵循一个主要的反应模式,即O-糖苷键的断裂,从而产生大量的分解产物——芳香物质香叶醇,但是,不同温度下香叶基-β-D-吡喃葡萄糖苷在线模式热裂解产物的转化率差距很大,在200℃条件下,香叶基-β-D-吡喃葡萄糖苷的裂解产物很少,仅为2.2%;300℃条件下裂解产生了大量的香叶醇,其转化率约为75.8%,其他产物较少;当温度升高至400℃时,副产物明显增加,香叶醇相对含量较少,约为22.7%^[10]。本文研究结果显示,在卷烟制品中加入芳基烷醇葡萄糖苷,将有可能提高香叶醇的特征香气,从而增加香料的稳定性。感官分析结果表明,添加芳基烷醇葡萄糖苷对低焦油卷烟的香味具有一定的补偿作用,但效果不显著。

2.4 芳基烷醇葡萄糖苷对植物致病菌生长的抑制作用

将不同浓度的苯甲醇-β-D-葡萄糖苷加入马铃薯葡萄糖琼脂培养基中,测定其对茶云纹叶枯病致病菌的抑制作用。结果表明:在苯甲醇-β-D-葡萄糖苷添加浓度为5、10、20、40 mg/mL时,均表现出明显的抗菌活性,随着添加浓度的增加,抑制作用加强,其抑制率分别为19.4%、29.0%、41.9%、48.4%。但是在此浓度范围内并没能完全抑制病原菌的生长。

参考文献

- 1 孙宝国,何坚编. 香精概论——香料、调配、应用[M]. 北京:化学工业出版社,1996. 126~127
- 2 Guo W, Hosoi R, Sakata K, et al. (S)-Linalyl, 2-phenylethyl, and benzyl disaccharide glycosides isolated as aroma precursors from Oolong tea leaves[J]. Biosci Biotech Biochem, 1994, 58(8): 1 532~1 534
- 3 Ito T, Kumazawa K. Precursor of antifungal substances from cherry leaves [J]. Biosci Biotech Biochem, 1995, 59 (10): 1 944~1 945
- 4 Elly S, Jan B F N E, Richard M K, et al. Reliable method for the synthesis of aryl-D-glucopyranosides, using boron trifluoride-diethyl ether as catalyst [J]. J Chem Soc Perkin Trans, 1996, 1: 2 873~2 877
- 5 张维杰主编. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州:浙江大学

- 出版社, 1999. 187~192
- 6 Henk A D, Ralph G, Richard M K, et al. Synthesis and liquid crystalline properties of the n-alkyl 1-thio- β -D-glucopyranosides, A new homologous series of carbohydrate mesogens[J]. Carbohydrate Research, 1989, 194: 71~77
 - 7 Jette C, Jerzy W J. Natural glycosides containing allopyranose from the passion fruit plant and circular dichroism of benzaldehyde cyanohydrin glycosides [J]. Organic Letters, 2001, 3(14): 2 193~2 195
 - 8 Chi-Kuen S, Briss M L J. Synthesis of 2-phenylethyl β -glucoside [J]. Agric Food Chem, 1994, 42 (8): 1 732~1 733
 - 9 Georg F K, Nitz S, Drawert F. Bound aroma compounds in tobacco smoke condensate [J]. Z Lebensm Unters Forsch, 1989, 188: 512~516
 - 10 解万翠, 顾小红, 罗昌荣, 等. 气相色谱-质谱法研究香叶基- β -D-吡喃葡萄糖苷的热裂解行为[J]. 色谱, 2006, 24 (4): 339~342

Chemical Synthesis, Identification and Application of Aryl Alcoholic- β -D-Glucosides

Wang Zhuochen, Li Yingbo, Ling Tiejun, Zhang Lei,

Wan Xiaochun, Zhang Zhengzhu

(Key Lab of Tea Biochemistry & Biotechnology, Ministry of Education and Ministry of Agriculture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

ABSTRACT Aryl alcoholic- β -D-glucosides were stereo-selectively synthesized through a modified Helferich route. This route was much easier and simple than the traditional Koenigs-knorr method. The total yields were 53% (3a) and 49% (3b) respectively, and the products were identified by LC/MS (liquid chromatograph/mass spectrograph), ^1H -NMR and ^{13}C -NMR. Aryl alcoholic glycosides could be used as the flavor improving materials in cigarette flavoring, while the convert rates of these compounds were very lower, 7.3% for 3a and 5.03% for 3b. Benzyl- β -glucoside exhibited antifungal activities obviously.

Key words aryl alcoholic- β -D-glucosides, synthesis, identification, flavor improving, antifungal

行业动态

赛默飞世尔科技(原热电公司)在北京扩建办公室

赛默飞世尔科技(原热电公司)宣布,已扩建其在北京的办公室,将各业务部门统一迁至位于北京安定门东大街28号的雍和大厦西楼7层办公,新办公室从2007年8月27日开始投入使用。

Thermo Fisher Scientific(赛默飞世尔科技,原热电公司)(纽约证交所代码:TMO)是全球科学服务领域的领导者,致力于帮助客户使世界更健康、更清洁、更安全。公司借助于 Thermo Scientific 和 Fisher Scientific 这2个主要的品牌,帮助客户解决在分析化学领域从常规的测试到复杂的研发项目中所遇到的各种挑战。Thermo Scientific 能够为客户提供一整套包括高端分析仪器、实验室装备、软件、服务、耗材和试剂在内的实验室综合解决方案。Fisher Scientific 为卫生保健,科学研究,以及安全和教育领域的客户提供一系列的实验室装备、化学药品以及其他用品和服务。赛默飞世尔科技将努力为客户提供便捷的采购方案,为科研的飞速发展不断地改进工艺技术,提升客户价值,帮助股东提高收益,为员工创造良好的发展空间。

在过去几年,赛默飞世尔科技在中国的销售额(不包括合并的部分)每年都以2位数的速度递增。快速的兼并和发展,使赛默飞世尔科技的中国业务有了突飞猛进的增长。除了2006年轰动业界的原热电和飞世尔科技的合并外,从上世纪80年代在中国仪器界享有盛名的知名品牌,如 Finnigan(菲尼根), Nicolet(尼高力), TJA, ARL, Farma, Heraeus, Sorvall, Haake 和 Orion(奥立龙)等在1990年代分别纳入赛默飞世尔科技旗下。

针对丰富的产品线和迅速增长的客户规模,赛默飞世尔还将设置全国统一的客户服务热线(800 810 5118 或 400 650 5118),及时为客户解答遇到的各种问题,并提供快速便捷的个性化服务。作为全球科学服务领域的领导者,赛默飞世尔科技一直致力于中国业务的发展。相信新的北京办公室将使公司的客户服务水平和质量提升到一个新的台阶。

欲获取更多信息,请浏览公司的网站: www.thermofisher.com。