

酱油酮- β -D-葡萄糖苷的合成及热解转移率

张改红, 石栋栋, 李童, 杨靖, 黄申, 毛多斌*

(郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 以乙酰溴- α -D-葡萄糖 (I) 为糖基供体和酱油酮 (II) 进行反应, 分别合成了酱油酮-2,3,4,6-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖苷 (III) 和酱油酮- β -D-葡萄糖苷 (IV)。在合成中间体 III 的过程中探索了 Koenigs-Knorr 法和相转移催化法。中间体及产物结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、FTIR 和 HRMS 确证。将产物 IV 加入卷烟中, 测定了其在主流烟气粒相中的转移率。结果表明, 两种方法均可得到中间体 III, 相转移催化法优于 Koenigs-Knorr 法。最优的相转移催化法的反应条件为: 0.10 g 四丁基溴化铵为催化剂、10 mL 二氯甲烷为溶剂、 $n(\text{I})=1.2$ mmol、1.60 g 无水 K_2CO_3 为缚酸剂、 $n(\text{I}):n(\text{II})=1.2:1.0$, 室温反应 8 h。在上述条件下中间体 III 的收率为 44.5%。中间体 III 在甲醇钠/甲醇体系中脱去乙酰基, 得到目标产物 IV, 收率 88.0%。卷烟燃吸过程中, 产物 IV 热裂解为酱油酮后, 其在主流烟气粒相中的转移率为 3.11%。

关键词: 糖苷化; 相转移催化; 酱油酮- β -D-葡萄糖苷; 热解转移率; 香精与香料

中图分类号: TS411; O629.13 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2023) 03-0621-06

Synthesis and pyrolysis transfer rate of 2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone-4-O- β -D-glucopyranoside

ZHANG Gaihong, SHI Dongdong, LI Tong, YANG Jing, HUANG Shen, MAO Duobin*

(School of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, Henan, China)

Abstract: 4-Hydroxyl-2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucoside (III) and 2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone-4-O- β -D-glucopyranoside (IV) were obtained, respectively, from glycosylation reaction of 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl bromide (I) and 4-hydroxyl-2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone (II), and the Koenigs-Knorr method as well as phase transfer catalysis method were explored in the synthesis of intermediate III. The structures of intermediate and product prepared were confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR, FTIR and HRMS. Product IV was then added into cigarettes and its transfer rate in mainstream tobacco smoke was analyzed. The results showed that, though intermediate III could be synthesized *via* both methods, phase transfer catalysis method was superior to Koenigs-Knorr method. The optimized reaction conditions of phase transfer catalysis, under which the yield of intermediate III reached 44.5%, were as follows: 0.10 g tetrabutylammonium bromide (TBAB) as catalyst, 10 mL dichloromethane as solvent, $n(\text{I})=1.2$ mmol, 1.60 g anhydrous potassium carbonate as acid binding agent, $n(\text{I}):n(\text{II})=1.2:1.0$, reaction at room temperature for 8 h. Meanwhile, product IV with a yield of 88.0% was obtained by deacetylation of intermediate III in sodium methoxide/methanol system. Moreover, product IV was pyrolyzed into 4-hydroxyl-2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone during cigarette combustion with a transfer rate of 3.11% in mainstream flue gas.

Key words: glycosidation; phase transfer catalysis; 2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone-4-O- β -D-glucopyranoside; pyrolysis transfer rate; perfume and essence

收稿日期: 2022-06-16; 定用日期: 2022-08-29; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220560

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (192102110212)

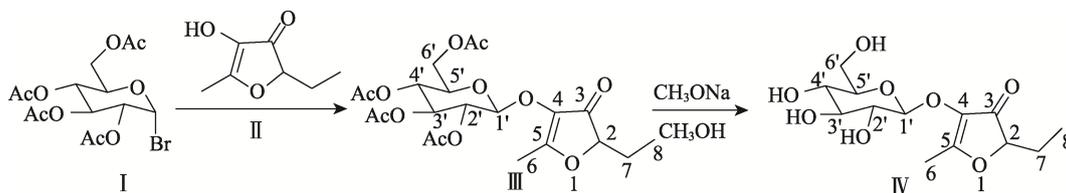
作者简介: 张改红 (1980—), 女, 副教授, E-mail: 50654048@qq.com。联系人: 毛多斌 (1962—), 男, 教授, E-mail: maoduobin@sohu.com。

糖苷是一类重要的潜香物质, 不易升华, 不易挥发损失, 具有良好的热稳定性, 但在一定条件下能发生裂解释放出相应的香味物质^[1-6], 其适用于高温加工工艺生产, 可以避免在加工、储存过程中香味物质的挥发, 在食品、烟草和医药等领域具有良好的应用前景。

酱油酮也称环高呋喃酮, 化学名为 2-乙基-4-羟基-5-甲基-3(2*H*)-呋喃酮, 天然存在于酱油^[7-8]、啤酒和麦芽汁^[9]中, 同时也是美拉德反应产物^[10], 具有浓郁的天然水果香味、轻微焦糖味和烘烤食品味。酱油酮 (FEMA3623) 是一类广谱食品添加剂, 是 GB/T 2760—2014^[11] 认可的安全食用香料 (酱油酮: S0240), 在食品工业中被广泛用作菠萝和焦糖气味的添加剂。但这类物质易挥发, 并且在空气中不稳定易氧化, 严重影响加香产品的质量稳定性。如果将此类药物衍生生成性质稳定、不易挥发的糖苷, 则

有望提高其加香价值。目前, KITAO 等^[12-13]报道了酱油酮- β -D-葡萄糖苷 (IV) 的生物合成, 探讨了其生物活性, 化合物 IV 是由酱油酮与糖供体蔗糖在蔗糖磷酸化酶存在下制备的。有关化合物 IV 的化学合成及其在卷烟主流烟气中的转移率研究鲜见报道。

糖苷的合成方法有很多种^[14-18], 最常用的合成方法有 Koenigs-Knorr 法和相转移催化法等。本文拟以乙酰溴- α -D-葡萄糖 (I) 为起始原料, 与酱油酮 (II) 进行糖苷化反应, 分别尝试 Koenigs-Knorr 法和相转移催化法来合成酱油酮- β -D-葡萄糖苷。对两种方法进行条件探索及优化, 以期为目标糖苷的合成找到更加便捷的途径。并将目标糖苷加入卷烟中, 测定其在卷烟主流烟气中的转移率, 为其在卷烟中的加香应用提供理论参考。具体的合成路线如下所示。



注: Ac 为 CH_3CO —。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

空白卷烟, 河南中烟工业有限责任公司; 乙酰溴- α -D-葡萄糖 (质量分数 98%)、三氟甲烷磺酸银 (AgOTf , 质量分数 97%)、四氟硼酸银 (AgBF_4 , 质量分数 99%), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 酱油酮标准品 (质量分数 99%)、无水 K_2CO_3 (质量分数 99%)、硝酸银 (AgNO_3 , 质量分数 99.8%)、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯及其余试剂均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; Ag_2CO_3 (质量分数 99%), 天津市赢达稀贵化学试剂厂; 硅胶 (200~300 目), 青岛海洋化工有限公司; 硅胶负载的银盐催化剂, 自制^[19]; 四丁基溴化铵 (TBAB, 质量分数 99%), 北京百灵威科技有限公司; 丙酸苏合香酯 (质量分数 97%), 上海阿达玛斯试剂有限公司。

Avance III 600 MHz 超导核磁共振波谱仪, 瑞士 Bruker 公司; AB Sciex Triple TOF 6600 超高效液相色谱-高分辨质谱联用仪, 美国 SCIEX 公司; RM20H 型吸烟机, 德国 Brogwaldt-KC 公司; 7890B-5977A 型气相色谱/质谱联用仪 (GC/MS), 美国安捷伦科技有限公司; Vertex 70 型傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Bruker 公司; KBF240 型恒温恒湿箱,

德国 Binder 公司; Cijector 型自动注射加香仪, 德国 Burghart 公司; KQ-500DE 数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 合成步骤

1.2.1 酱油酮-2,3,4,6-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖苷 (III) 的合成

1.2.1.1 Koenigs-Knorr 法

向 50 mL 三口圆底烧瓶中加入 0.14 g (1.0 mmol) 酱油酮标准品、0.49 g (1.2 mmol) 乙酰溴- α -D-葡萄糖、0.2 g 4A 分子筛、10 mL 溶剂 (如二氯甲烷), 避光室温 (25 °C) 搅拌条件下, 加入银盐催化剂 [如新制备的硅胶负载的 Ag_2CO_3 0.41 g (1.5 mmol)], 继续进行反应, 反应过程采用薄层色谱法 (TLC) 监测, 用 $V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 3 : 1$ 的混合溶剂作展开剂。反应完毕, 停止搅拌, 过滤, 滤液减压旋蒸浓缩, 得到黄棕色膏体, 用 200~300 目硅胶柱层析分离, 用 $V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 3 : 1$ 的混合溶剂洗脱, 旋蒸后得到化合物 III, 白色黏稠物, 冰箱冷冻后变为固体 0.085 g, 收率 18.0%。

1.2.1.2 相转移催化法

向 50 mL 圆底烧瓶中加入 0.14 g (1.0 mmol) 酱油酮标准品、适量碱 [如 1.60 g (11.5 mmol) 无水 K_2CO_3]、0.10 g (0.31 mmol) TBAB、10 mL 溶

剂(如二氯甲烷),室温搅拌下,将 0.49 g (1.2 mmol) 乙酰溴- α -D-葡萄糖溶于 10 mL 溶剂(如二氯甲烷)中并滴入反应液,滴加完毕,继续搅拌反应,反应完毕过滤,滤液减压旋蒸浓缩,得到酒红色黏稠状物质。硅胶柱层析分离,用 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=3:1 混合溶剂洗脱,旋蒸后得到化合物 III,白色黏稠物,冷冻后变为白色固体 0.42 g,收率 44.5%。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3), δ : 5.18 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.11 (m, 2H), 4.37~4.31 (m, 2H), 4.17~4.12 (m, 2H), 3.70 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (s, 6H), 1.80~1.71 (m, 2H), 1.19 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.97 (t, J = 6.0 Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3), δ : 195.70, 181.36, 170.51, 170.10, 169.86, 169.50, 133.75, 99.86, 85.49, 72.58, 71.92, 71.06, 68.32, 61.82, 24.37, 20.80, 20.67, 20.60 (2C), 13.76, 8.65。FTIR (KBr), ν/cm^{-1} : 2985, 1753, 1706, 1628, 1432, 1378, 1221, 1072。HRMS (ESI), $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 473.1654; 测试值 473.1652。

1.2.2 酱油酮- β -D-葡萄糖苷(IV)的合成

向 100 mL 圆底烧瓶中加入 0.32 g (0.67 mmol) 酱油酮-2,3,4,6-四- O -乙酰基- β -D-葡萄糖苷、1.5 mL 0.2 mol/L 甲醇钠/甲醇溶液、25 mL 无水甲醇,室温搅拌下反应 8 h, TLC 跟踪反应,有明显极性变大的产物生成,反应完毕,加入适量 200~300 目硅胶粉末,旋蒸除去溶剂,得黄色粉末。硅胶柱层析分离〔洗脱剂先用 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=3:1,再用 V (二氯甲烷): V (甲醇)=5:1〕,收集含有目标产物的溶液,旋蒸除去溶剂后得到白色固体 0.18 g,收率 88%。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD), δ : 4.74 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.57~4.53 (m, 1H), 3.85~3.81 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.29 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 1.98 (m, 2H), 1.44 (d, J = 7.2, 3H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD), δ : 198.29, 183.69, 134.01, 103.19, 85.42, 76.93, 76.30, 73.45, 69.74, 61.09, 24.08, 12.76, 7.13。FTIR (KBr), ν/cm^{-1} : 3420, 2924, 1691, 1618, 1456, 1275, 1204, 1071, 924。HRMS (ESI), $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_8$, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 计算值 327.1050; 测试值 327.1052。

1.3 酱油酮- β -D-葡萄糖苷热裂解转移率的测定

1.3.1 卷烟加香

称取酱油酮- β -D-葡萄糖苷约 0.3 g,加入 1.5 mL 无水乙醇,超声波辅助溶解后,采用自动注射加香仪将香料溶液注入未加香空白卷烟样品中,每支卷烟加香 30 μL ,起始加香点 2 mm,终止加香点 58 mm。注射完毕将加香处理过的烟支置于恒温恒湿箱中〔相对湿度 60% \pm 3%、温度(22 \pm 1) $^\circ\text{C}$ 〕平衡 48 h 以上待测,剑桥滤片也在相同的环境中平衡 12 h 以上。空白对照卷烟取等量无水乙醇采用相同方式加香。

1.3.2 主流烟气粒相转移率

取空白卷烟和酱油酮- β -D-葡萄糖苷加香实验卷烟,用吸烟机在标准条件下抽吸卷烟,每种卷烟抽吸 30 支。用平衡后的剑桥滤片收集主流烟气粒相物,每个剑桥滤片截留 10 支卷烟的粒相物。抽吸完毕,将捕集 30 支卷烟烟气粒相物的剑桥滤片折叠,放入 50 mL 锥形瓶中,加入 30 mL 二氯甲烷,同时加入质量浓度为 2.011 g/L 丙酸苏合香酯内标溶液 0.2 mL,超声萃取 25 min;萃取后取 1 mL 萃取液用 0.22 μm 有机滤膜过滤,进行 GC/MS 检测。

根据式(1)计算酱油酮- β -D-葡萄糖苷在卷烟主流烟气粒相中的转移率:

$$Y/\% = (M - M_0) / M_e \times 100 \quad (1)$$

式中: Y 为主流烟气粒相中的转移率,%; M 为加香卷烟主流烟气粒相物中酱油酮的质量(mg/支); M_0 为空白卷烟主流烟气粒相物中酱油酮的质量(mg/支); M_e 为卷烟添加的酱油酮- β -D-葡萄糖苷中相应折算的酱油酮的量(mg/支)。

1.3.3 GC/MS 标准曲线绘制

准确称取酱油酮标准品 90.8 mg,用二氯甲烷定容至 100 mL;准确移取该溶液 0.005、0.01、0.03、0.05、0.1、0.3、0.5、1、3、5 mL 于 10 mL 容量瓶中,各加入 0.2 mL 质量浓度为 2.011 g/L 丙酸苏合香酯内标溶液并定容至 10 mL,配制成 10 个系列标准品溶液;用 0.22 μm 有机滤膜过滤后进行 GC/MS 检测,并绘制标准曲线。

1.3.4 GC/MS 分析条件选择

色谱条件:色谱柱 Agilent 122-5562 DB-5ms (60 m \times 250 μm \times 0.25 μm),进样量 1.0 μL ,进样口温度 280 $^\circ\text{C}$,分流比 10:1,流速 1 mL/min;升温程序为 40 $^\circ\text{C}$,保持 0 min,以 1.5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 140 $^\circ\text{C}$,保持 10 min;以 1 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 145 $^\circ\text{C}$ 。

质谱条件:电子轰击离子源(EI),电离能量 70 eV,四极杆温度 150 $^\circ\text{C}$,离子源温度 230 $^\circ\text{C}$,传输线温度 280 $^\circ\text{C}$,扫描范围 35~550 $^\circ\text{C}$,溶剂延迟时间 8 min。定性分析采用全扫描工作方式,采用 NIST 17 谱图库检索,结合保留指数对比的方法进行;定量分析采用 SIM 工作方式,以气相色谱图中酱油酮的峰面积与内标丙酸苏合香酯峰面积之比进行。

2 结果与讨论

合成糖苷的核心在于构建糖苷键,而糖基化反应在糖苷键的构筑中表现出了独特的高效性。最为经典的 Koenigs-Knorr 糖基化反应就是利用卤代糖作为糖基供体来构筑糖苷键的。其中,氯代糖最稳

定,但活性最差,而碘代糖最不稳定,因此溴代糖是最为常用的糖基供体,溴代糖作为糖基供体时,反应条件易于控制,可得到 β 构型产物^[20]。因此,本文以乙酰溴- α -D-葡萄糖作为糖基供体,分别探讨了 Koenigs-Knorr 法和相转移催化法,其中相转移催化法反应条件温和、易于控制、收率较高(44.5%)。Koenigs-Knorr 法反应体系复杂、收率低(18.0%)。因此,相转移催化法优于 Koenigs-Knorr 法。

2.1 化合物 III 合成方法探讨

在合成化合物 III 的过程中,首先探索了 Koenigs-Knorr 糖苷化反应,按照 1.2.1.1 节实验方法,考察了催化剂种类、反应溶剂种类、反应温度对化合物 III 收率的影响,结果如表 1 所示。

表 1 反应条件对化合物 III 收率的影响

Table 1 Effect of reaction conditions on the yield of compound III

序号	催化剂	溶剂	反应温度/°C	反应时间/h	收率/%
1	AgNO ₃	二氯甲烷	25	6	4.5
2	Ag ₂ CO ₃ (商品化)	二氯甲烷	25	6	10.9
3	Ag ₂ CO ₃ (新制备)	二氯甲烷	25	6	12.4
4	Ag ₂ CO ₃ (新制备 SiO ₂ 负载)	二氯甲烷	25	6	18.0
5	AgOTf	二氯甲烷	25	6	4.8
6	AgBF ₄	二氯甲烷	25	6	5.0
7	AgNO ₃	丙酮	40	8	NR
8	Ag ₂ CO ₃ (商品化)	丙酮	40	8	NR
9	Ag ₂ CO ₃ (新制备)	丙酮	40	8	NR
10	Ag ₂ CO ₃ (新制备 SiO ₂ 负载)	丙酮	40	8	3.5
11	AgOTf	丙酮	40	8	NR
12	AgBF ₄	丙酮	40	8	2.6

注: $n(\text{I}) : n(\text{II}) = 1.2 : 1.0$ 、 $n(\text{催化剂}) : n(\text{II}) = 1.5 : 1.0$ 、NR 为未反应; $n(\text{I}) = 1.2 \text{ mmol}$ 。

由表 1 可知,对比序号 1~6,保持其他因素不变,考察了催化剂对化合物 III 收率的影响,新制备的 SiO₂ 负载 Ag₂CO₃ 的活性最高(序号 4,收率 18.0%),新制备的 Ag₂CO₃ (序号 3,收率 12.4%) 和商品化 Ag₂CO₃ (序号 2,收率 10.9%) 次之,AgNO₃、AgOTf、AgBF₄ 的活性最差(分别对应序号 1,收率 4.5%;序号 5,收率 4.8%;序号 6,收率 5.0%)。可能的原因是 Ag₂CO₃ 负载于硅胶 SiO₂ 上,能够有效增加银盐催化剂的比表面积,增强其催化活性。对于序号 1~6,室温下反应 6 h 后,化合物 III 收率不再增加,继续延长反应时间,反应体系变复杂,副产物增多,影响目标产物的分离纯化。对比序号 7~12,以丙酮作为反应溶剂,室温反应 12 h 没有产物生成,加热 40 °C 反应 8 h 后仅有少量产

物生成(序号 10,收率 3.5%;序号 12,收率 2.6%),主要的副产物是 2,3,4,6-四乙酰葡萄糖,可能的原因是反应体系中残留的水分会导致乙酰溴- α -D-葡萄糖在银盐作用下发生水解,生成 2,3,4,6-四乙酰葡萄糖,因此,水分对糖苷化反应的进行不利,所以反应溶剂要进行无水处理,同时反应体系中也要加入适量的干燥剂 4A 分子筛。对比序号 1~6 和序号 7~12,采用二氯甲烷作溶剂整体上优于丙酮作溶剂,新制备的 SiO₂ 负载 Ag₂CO₃ 活性最好。

通过反应条件的探索和优化,采用 Koenigs-Knorr 法进行反应的最佳条件:以二氯甲烷(10 mL)为反应溶剂、新制备的 SiO₂ 负载 Ag₂CO₃ 为催化剂、 $n(\text{催化剂}) : n(\text{II}) = 1.5 : 1.0$ 、投料比 $n(\text{I}) : n(\text{II}) = 1.2 : 1.0$,室温反应 6 h。其中, $n(\text{I})$ 为 1.2 mmol,化合物 III 的收率为 18.0%。

由于采用 Koenigs-Knorr 法,化合物 III 收率较低,因此,按照 1.2.1.2 节实验方法,尝试采用相转移催化法合成化合物 III,结果如表 2 所示。

表 2 碱和催化剂对化合物 III 收率的影响

Table 2 Effect of base and catalyst on the yield of compound III

序号	碱	催化剂	溶剂	反应温度/°C	反应时间/h	收率/%
1	1 mol/L NaOH 溶液	TBAB	二氯甲烷	40	5	35.0
2	1 mol/L K ₂ CO ₃ 溶液	TBAB	二氯甲烷	40	5	32.0
3	无水 K ₂ CO ₃	TBAB	二氯甲烷	25	8	44.5
4	无水 K ₂ CO ₃	TBAB	二氯甲烷	40	4	37.5
5	无水 K ₂ CO ₃	TBAB	丙酮	25	7	28.5
6	无水 K ₂ CO ₃	TBAB	丙酮	40	5	26.0

注: $n(\text{I}) : n(\text{II}) = 1.2 : 1.0$ 、 $n(\text{II}) : n(\text{TBAB}) = 1.0 : 0.3$ 、1 mol/L 碱溶液 1 mL; $n(\text{I}) = 1.2 \text{ mmol}$ 。

由表 2 可知,对比序号 1 和 2,同样采用二氯甲烷-水两相体系,TBAB 为相转移催化剂,序号 1 使用碱性较强的 NaOH 水溶液作为缚酸剂,序号 2 使用碱性较弱的 K₂CO₃ 水溶液作为缚酸剂,两者收率均较低,均存在反应体系复杂、副产物多等问题,改变反应时间或反应物质的量比,收率并无增加。对比序号 3 和 4,考虑到反应体系中的水及碱性的强弱可能会对乙酰溴- α -D-葡萄糖的水解、消除等副反应的发生有影响,因此改用单纯的二氯甲烷作溶剂,并采用弱碱无水 K₂CO₃ 固体为缚酸剂,探索不同温度下的反应,室温(25 °C)反应收率较高(序号 3,收率 44.5%),加热 40 °C 反应时间缩短,但反应液颜色较深,且 TLC 监测时存在拖尾现象,影响后续产物的分离纯化,收率降低(序号 4,收率

37.5%)。为了进一步提高反应收率, 采用本课题组前期方法^[3], 进行了序号5和6, 以丙酮为溶剂, 无水 K_2CO_3 固体为缚酸剂, 探索室温和加热条件下的反应, 两者均有产物(序号5, 收率28.5%; 序号6, 收率26.0%), 但与二氯甲烷为溶剂的体系(序号3, 收率44.5%)相比, 产物较少, 收率较低。因此, 选择序号3的方法来合成化合物Ⅲ, 即以TBAB为催化剂、二氯甲烷为溶剂、无水 K_2CO_3 固体为缚酸剂、投料比 $n(I) : n(II) = 1.2 : 1.0$ 、室温反应8 h, 化合物Ⅲ的收率为44.5%。

2.2 化合物Ⅲ和Ⅳ的谱图数据及结构解析

中间体Ⅲ和目标产物Ⅳ的结构经 1H NMR、 ^{13}C NMR、FTIR 和 HRMS 确证。

由 1H NMR 谱图上的数据可知, 化合物Ⅲ和化合物Ⅳ的共同特征都含有呋喃环上的取代基信号峰。对中间体Ⅲ来说, H6、H7、H8 的化学位移分别为 1.19、1.80~1.71、0.97; 对产物Ⅳ来说, H6、H7、H8 的化学位移分别为 1.44、1.98、0.99。另外, 化合物Ⅲ和Ⅳ中同时都含有糖基和呋喃环上的次甲基。中间体Ⅲ的 H1'、H2'、H3'、H4'、H5'、H6'、H2 的化学位移分别为 5.18、5.11、4.37~4.31、4.17~4.12、3.70; 产物Ⅳ的 H1'、H2'、H3'、H4'、H5'、H6'、H2 的化学位移分别为 4.74、4.57~4.53、3.85~3.81、3.70、3.40、3.37、3.29、3.26。化合物Ⅲ和Ⅳ的主要区别在于, 化合物Ⅲ中含有4个乙酰基基团, 而化合物Ⅳ则不含有乙酰基基团, 化合物Ⅲ中乙酰基上的氢化学位移为 2.12、2.07、2.02。由于化合物Ⅳ 1H NMR 所用溶剂为氘代甲醇, 所以葡萄糖环上的4个—OH 氢信号被屏蔽, 谱图上没有显示其化学位移。

在 ^{13}C NMR 谱图上, 在化合物Ⅲ中, C=O 键上 C 的化学位移为 170.51、170.10、169.86、169.50; CH_3 上 C 的化学位移为 20.80、20.67、20.60(2C), 对应4个乙酰基上的羰基碳和甲基碳, 化合物Ⅳ中则没有这些 C 的化学位移, 表明分子中不含乙酰基。化合物Ⅲ和Ⅳ均含有呋喃环上羰基、双键及次甲基 C 的化学位移。中间体Ⅲ中 C3、C5、C4、C2 的化学位移分别为 195.70、181.36、133.75、85.49; 产物Ⅳ中 C3、C5、C4、C2 的化学位移分别为 198.29、183.69、134.01、85.42。此外, 化合物Ⅲ和Ⅳ均含有呋喃环取代基上甲基、乙基 C 的化学位移。中间体Ⅲ中 C7、C6、C8 的化学位移分别为 24.37、13.76、8.65; 产物Ⅳ中 C7、C6、C8 的化学位移分别为 24.08、12.76、7.13。另外, 化合物Ⅲ和Ⅳ中 C 的化学位移(Ⅲ: $\delta=99.86$ 、72.58、71.92、71.06、68.32、61.82; Ⅳ: $\delta=103.19$ 、76.93、76.30、73.45、69.74、61.09) 对应糖基上 C 信号峰。

化合物Ⅲ的 FTIR 谱中, 1753 cm^{-1} 为乙酰基 C=O 键的伸缩振动吸收峰, 1706 cm^{-1} 为呋喃环上酮基 C=O 键的伸缩振动吸收峰, 1628 cm^{-1} 为呋喃环上 C=C 键的伸缩振动吸收峰。而在化合物Ⅳ的 FTIR 谱中, 1691 cm^{-1} 为呋喃环上酮基 C=O 键的伸缩振动吸收峰, 1618 cm^{-1} 为呋喃环上 C=C 键的伸缩振动吸收峰, 与化合物Ⅲ相比, 化合物Ⅳ缺少了乙酰基 C=O 键的伸缩振动吸收峰, 多出了 3420 cm^{-1} 羟基的伸缩振动吸收峰。综合上述谱图数据可见, 化合物Ⅳ相对于中间体Ⅲ少了乙酰基, 多了羟基。

HRMS 数据可知, 化合物Ⅲ结构简式为 $C_{21}H_{28}O_{12}$, $[M+H]^+$ 计算值为 473.1654, 实测值 473.1652。化合物Ⅳ结构简式为 $C_{13}H_{20}O_8$, $[M+Na]^+$ 计算值为 327.1050, 实测值 327.1052。数据均在合理误差范围内。

根据 1H NMR 中糖基环上质子(H1')的 $J_{1,2'}$ 来判断化合物Ⅲ和Ⅳ的糖苷键构型。 $J_{1,2'} = 2\sim 4\text{ Hz}$, 糖苷为 α 构型; $J_{1,2'} = 6\sim 8\text{ Hz}$, 糖苷为 β 构型。化合物Ⅲ中, H1' 化学位移为 5.18, $J_{1,2'} = 7.8\text{ Hz}$; 化合物Ⅳ中, H1' 化学位移为 4.74, $J_{1,2'} = 7.8\text{ Hz}$ 。由此判断化合物Ⅲ和化合物Ⅳ均为 β 构型。

2.3 GC/MS 标准曲线的绘制及分析

2.3.1 标准曲线与线性相关系数

取10个系列酱油酮标准品溶液进行 GC/MS 检测, 由各标样与内标的峰面积 (y , 10^6) 之比对相应的各标样与内标的质量浓度 (x , g/L) 之比进行回归分析, 得到标准曲线 $y = 0.2924x - 0.0064$, $R^2 = 0.9994$ 。可见, 在 0.00908~0.454 g/L 的质量浓度范围内, 方程的线性关系良好。

2.3.2 GC/MS 分析

将酱油酮标准品溶液和加香卷烟主流烟气粒粒物的萃取液按照 GC/MS 条件进行分析, 在实验条件下, 首先通过 GC/MS 全扫描方式得到总离子流图, 然后选择相对丰度较高和 m/Z 较大的离子进行 GC/MS/SIM 分析, 酱油酮和内标丙酸苏合香酯的保留时间与选择离子见表3。并根据所得总离子流色谱图上的保留时间和香料单体标准品的质谱图进行定性分析, 确定酱油- β -D-葡萄糖苷裂解产生了酱油酮。

表3 配糖体/内标的保留时间和选择离子
Table 3 Retention time and selected ions of glycone/internal standard

配糖体/内标	保留时间/min	选择离子/(m/Z)
酱油酮	44.42	142、127、99
丙酸苏合香酯	57.53	122

2.4 主流烟气粒相转移率的计算

通过 GC/MS 分析发现,主流烟气粒相物组分中除了酱油酮的量有显著变化外,其他成分几乎没有变化,这说明在燃吸温度下,酱油酮- β -D-葡萄糖苷主要发生了糖苷键的断裂,生成了酱油酮。未加酱油酮- β -D-葡萄糖苷时,空白卷烟烟气中并无酱油酮;当添加酱油酮- β -D-葡萄糖苷时,每支卷烟烟气中酱油酮的量为 0.087 mg,而每支卷烟中添加化合物 IV 的平均质量为 6 mg,换算后相应酱油酮的量为 2.80 mg。因此,化合物 IV 裂解为酱油酮的转移率为 3.11%,即卷烟燃吸过程中 100 mg 化合物 IV 可裂解并向卷烟主流烟气粒相物中释放 3.11 mg 的酱油酮。化合物 IV 裂解转移率较低,分析可能的原因是,在卷烟燃烧过程中,随着烟气的转移,一部分烟气会挥发至空气中成为侧流烟气,导致热解产生的相应单体(酱油酮)转移至主流烟气中的量减少^[4];另外,由于烟丝及滤嘴的过滤截留作用,也会导致转移率下降。段海波等^[4]报道了添加玫瑰醇糖苷的卷烟,燃吸后产生的玫瑰醇向主流烟气粒相中的转移率为 2.21%。韩路等^[21]测定了烟丝加香方式下 7 种糖苷配基在主流烟气粒相中的转移率,其中,转移率最高的为 5-甲基糠醇(1.99%),最低的为薄荷醇(0.47%)。酱油酮- β -D-葡萄糖苷的转移率略高于玫瑰醇糖苷的转移率,远高于薄荷醇糖苷的转移率,这可能与酱油酮的结构和性质有关。转移率的测定对于不同的糖苷在实际加香中的用量有一定的指导作用。

3 结论

(1) 以乙酰溴- α -D-葡萄糖和酱油酮为初始原料,在银盐和相转移催化剂作用下,合成了酱油酮-2,3,4,6-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖苷和酱油酮- β -D-葡萄糖苷,相转移催化法优于 Koenigs-Knorr 法。Koenigs-Knorr 法收率较低,为 18.0%;相转移催化法反应条件温和,收率中等,为 44.5%。酱油酮-2,3,4,6-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖苷在甲醇钠/甲醇体系中脱去乙酰基,得到目标酱油酮- β -D-葡萄糖苷,收率 88.0%。

(2) 将酱油酮- β -D-葡萄糖苷加入卷烟中,燃吸后,卷烟烟气中能够释放出特征香气物质酱油酮,燃吸后产生的酱油酮向主流烟气粒相中的转移率为 3.11%。因此,酱油酮- β -D-葡萄糖苷可以作为一种烟用香料前体。本研究可为卷烟加香应用提供理论参考。

参考文献:

[1] LI T L, LI T, ZHANG Y Q, *et al.* Preparation of tea aroma precursor

- intermediates: An efficient and sustainable approach *via* chemical glycosidation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(7): 2320-2327.
- [2] LIU J, YIN X F, LI Z T, *et al.* Facile enzymatic synthesis of diverse naturally-occurring β -D-mannopyranosides catalyzed by intermediate phosphorylases[J]. *ACS Catalysis*, 2021, 11(5): 2763-2768.
- [3] ZHANG G H (张改红), XU G G (徐改改), BAI B (白冰), *et al.* Facile preparation of maltol alcohol- β -D-glucopyranoside and its flavoring application[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(5): 997-1001.
- [4] DUAN H B (段海波), XIE W C (解万翠), JIANG L (姜黎), *et al.* Application of rhodinol- β -D-intermediate in cigarette flavoring and slow aroma-releasing[J]. *Tobacco Science & Technology (烟草科技)*, 2019, 52(4): 57-64.
- [5] LI Y G (李有桂), LU M M (卢梦梦), ZHU C F (朱成峰), *et al.* Synthesis and pyrolysis of methylcyclopentenolone- β -D-glucopyranoside[J]. *Tobacco Science & Technology (烟草科技)*, 2015, 48(6): 45-51.
- [6] WANG W (王为). Synthesis of intermediate flavor precursors and their application in cigarette flavoring[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology (上海应用技术大学), 2016.
- [7] STEINHAUS P, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(15): 6262-6269.
- [8] KANEKO S, KUMAZAWA K, NISHIMURA O. Studies on the key aroma compounds in raw (unheated) and heated Japanese soy sauce[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(14): 3396-3402.
- [9] LI M (李梅), YANG Z X (杨朝霞), CHEN H L (陈华磊), *et al.* Determination of sweet flavor compounds in wort and beer by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography (色谱)*, 2016, 34(3): 258-262.
- [10] BLANK I, FAY L B. Formation of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone and 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone through Maillard reaction based on pentose sugars[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44(2): 531-536.
- [11] National Health and Family Planning Committee. National food safety standard for the use of food additives: GB/T 2760—2014[S]. Beijing: China Standard Press (中国标准出版社), 2015.
- [12] KITAO S, SHIMAOKA Y, SEKINE H. Preparation of 4-O-(α -D-glucopyranosyl)-4-hydroxy-3(2H)-furanone as antitumor and antimutagenic agents: JP06135987A[P]. 1994-05-17.
- [13] KITAO S, MATSUDO S T, SASAKI T, *et al.* Enzymatic synthesis of stable, odorless, and powdered furanone glucosides by sucrose phosphorylase[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2000, 64(1): 134-141.
- [14] TIAN S S (田思思). Research progress of Koenigs-Knorr glycosylation[J]. *Chemical Engineer (化学工程师)*, 2021, 35(6): 56-60, 45.
- [15] LI T, LI T L, ZHUANG H R, *et al.* O-Glycosyl trichloroacetimidates as glycosyl donors and platinum(IV) chloride as a dual catalyst permitting stereo- and regioselective glycosidations[J]. *ACS Catalysis*, 2021, 11(16): 10279-10287.
- [16] SIM J, KIM S H, HUR J, *et al.* Indium(III) triflate-catalyzed glycosylation through an ambient activation of glycosyl fluoride[J]. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 2019, 8(1): 107-110.
- [17] SINGH Y, DEMCHENKO A V. Koenigs-Knorr glycosylation reaction catalyzed by trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2019, 25(6): 1461-1465.
- [18] CUI J L (崔继来). Contribution of glycosidically bound volatiles on the aroma formation of oolong tea and black tea[D]. Chongqing: Southwest University (西南大学), 2016.
- [19] YANG H X (杨洪锡), XIE W C (解万翠), WANG W M (王维民), *et al.* Synthesis and characterization of β -D-glucopyranosides flavor precursors[J]. *Food Science (食品科学)*, 2007, 28(11): 179-182.
- [20] LIANG J (梁娟), WENG W Z (翁伟智), SONG J (宋健). Synthesis of (2,3-dimethoxy-6-formyl)phenyl- β -D-glucoside[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2017, 34(5): 596-600.
- [21] HAN L (韩路), CHU W J (楚文娟), HU S D (胡少东), *et al.* Study on pyrolysis transfer rules of seven aglycones in flue gas under two kinds of flavoring methods[J]. *Food & Machinery (食品与机械)*, 2022, 38(2): 16-20, 26.