

烟草与烟气化学

烟草潜香类物质果糖嗪的合成

程传玲¹, 宋辉¹, 汪文良², 刘丁伟³, 毛多斌¹, 王建民¹¹ 郑州轻工业学院, 食品与生物工程学院, 河南郑州东风路 5 号 450002;² 红云红河烟草集团有限公司, 红河卷烟厂, 云南红河弥勒县弥阳镇桃园路 50 号 652300;³ 河南中烟工业有限责任公司, 技术中心, 河南郑州陇海东路 72 号 450000

摘要: 对果糖嗪的合成方法进行了研究。选用 2-氨基-2-脱氧葡萄糖胺盐酸盐和钠作原料, 在甲醇中于 70℃ 回流反应 4 h, 反应产物经价格低廉的 732 型阳离子交换树脂柱层析和 717 型强碱性阴离子树脂中和及活性炭脱色, 再经多次甲醇重结晶, 得到纯度为 95% 以上的果糖嗪。该产品再通过高效液相制备色谱得到纯白色固体, 其纯度可达 98% 以上, 在 4℃ 可保存至少 2 个月而不降低纯度。

关键词: 烟草; 果糖嗪; 合成

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2012.06.001

中图分类号: TS411

文献标识码: A

文章编号: 1004-5708(2012)06-0001-04

The synthesis of tobacco flavor precursor fructosazine

CHENG Chuan-ling¹, SONG Hui¹, WANG Wen-liang², LIU Ding-wei³, MAO Duo-bin¹, WANG Jian-min¹¹ School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;² Honghe Cigarette Factory, Hongyun Honghe Tobacco (Group) Co., Ltd., Honghe 652300, China;³ Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

Abstract: Fructosazine was synthesized by refluxing 2-amino-2-deoxyglucose amine hydrochloride and sodium in methanol at 70℃ for 4 hours. The reaction products were purified with 732 type cation exchange resin column chromatography, neutralized with 717 strong basic anion exchange resin, decolorized with activated carbon, and crystallized in methanol to obtain fructosazine with 95% and above purity. The product was further purified by preparative high-performance liquid chromatography to obtain purer white solid with 98% and above purity, which might be stored within two months at 4℃ without degradation.

Keywords: tobacco; fructosazine; synthesis

果糖嗪(fructosazine, FA), 化学名为 2,5(或 6)-二(1',2',3',4'-四羟基丁基)吡嗪, 是一种多羟基烷基吡嗪类化合物, 其结构式如图 1 所示, 自然界以 2,5-果糖嗪为主, 在多种植物中均有存在^[1-3], 是烟草中一类重要的潜香类化合物(香气前体物质)。与挥发性和半挥发性香味物质不同, 潜香类化合物在减少人为的香口味补偿痕迹的同时不会导致卷烟主流烟气中烟

碱、焦油等物质递送量的显著变化, 能更持久稳定提供烟气特征香味。1898 和 1899 年 Lobry de Bruyn^[4-5] 最早发现 D-葡萄糖胺果糖嗪以及 D-果糖与氨基酸的反应物中形成了果糖嗪, Kuhn 等^[6] 使用 2-氨基-2-脱氧果糖在氨水中反应 6 个月, 室温下生成果糖嗪的产率为 26%。1966 年, Shoji Fujii 等^[7] 通过进一步研究, 将果糖嗪的合成时间缩短为 4 h, 极大地促进了果糖嗪的研究。国外关于果糖嗪在卷烟加香及生理作用上均有研究应用^[8-9], 国内尚未见报道。本文在加热条件下利用 2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖盐酸盐的自缩合反应合成果糖嗪(合成路线如图 2 所示), 旨在为低成本、高效率合成及纯化分离果糖嗪提供技术支持。

基金项目: 河南省科技厅科技攻关(重点项目)(102102210135)

作者简介: 程传玲(1977—), 博士, 副教授, 主要从事有机合成及烟草化学研究, E-mail: chuanlingcheng@163.com

收稿日期: 2011-11-20

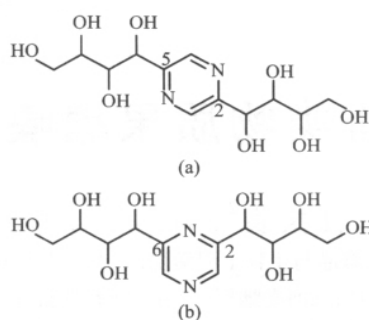


图 1 (a) 2,5-果糖嗪; (b) 2,6-果糖嗪

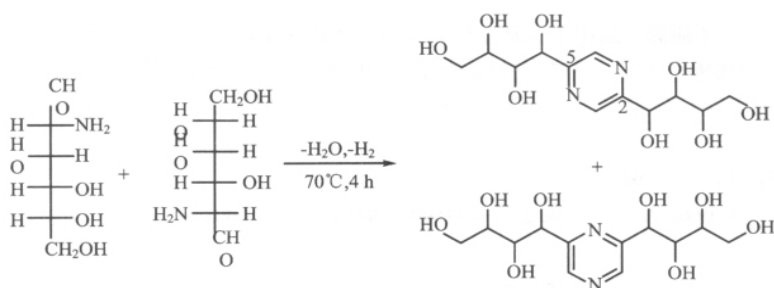


图 2 果糖嗪的合成路线

1 仪器及试剂

1.1 仪器设备

RE-52AA 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); DLSB-5/10 型低温冷却循环泵(郑州凯鹏实验仪器有限公司); AB265-S 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); 98-3 型磁力搅拌器(郑州凯鹏实验仪器有限公司); SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城工贸有限公司); DHG-9145A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); Thermo Nicolet Avatar370 型红外光谱仪(KBr 压片,美国 Nicolet 公司); Bruker Avance AMX 型核磁共振仪(美国 Bruker 公司); micro TOF-Q II 高性能的电喷雾-四级杆-飞行时间 LC/MS/MS 串联质谱仪(美国布鲁克·道尔顿公司); ZF7C 型三用紫外分析仪(上海慧鑫科学仪器有限公司); Waters Delta 600 HPLC (配置 Waters 1525 紫外可见检测器,美国 Waters 公司)。

1.2 化学试剂

所用试剂除乙腈外均为分析纯。732 型阳离子交换树脂和 717 型阴离子交换树脂(江苏省临海化工厂有限公司); 盐酸(徐州思源化工有限公司); 氢氧化钠(淄博旭航化工有限公司); 亚硝酸钠(青岛宏盛化工有限公司); 碳酸钠(昆山源聚精细化工有限公司); 金属钠(河南省东方惠化工有限公司); 甲醇(济南吉祥化工有限公司); 2-氨基-2-脱氧-葡萄糖胺盐酸盐(上海蓝安实业有限公司); 活性炭(重庆钟山活性炭制造有

限公司); 色谱乙腈(嘉兴市精博化学有限公司)。

2 实验方法(果糖嗪的合成)

在通风橱中取甲醇 50 mL 于烧杯中,加热至 50℃ 后加入金属钠(约 3.0 g)反应,待反应完全后,冷却甲醇溶液至室温后,边搅边加入 2-氨基-2-脱氧-葡萄糖胺盐酸盐 30.0 g,继续搅拌至沉淀(氯化钠)不再产生,抽滤去除氯化钠,滤液转移至如图 3 所示的圆底烧瓶反应容器中,加热至 70℃ 反应(最优时间是 4 h),在反应过程中需向反应液中补加约 5 mL 甲醇。为使反应在有氧的条件下进行,需通入空气(如图 3 所示)。反应完全后反应液在 4℃ 冰箱中冷藏过夜结晶,抽滤,并用经冷藏的无水甲醇洗涤,得到浅黄色晶体和深棕色的滤液。滤液蒸除溶剂,用最少量的纯水溶解,甲醇重结晶,抽滤,过预处理过的 732 强酸性阳离子树脂柱,再用经过预处理的 717 型强碱性阴离子树脂中和至中性。抽滤去除掉树脂,再活性炭柱层析脱色,所得的无色滤液旋蒸至糊状,用热甲醇溶解,置于 4℃ 冰箱中重结晶过夜。所得固体再重复上述重结晶步骤,经阳离子树脂、阴离子树脂及活性炭除杂,旋蒸至糊状物,用热甲醇溶解,置于 4℃ 冰箱中过夜重结晶,过滤。合并上述直接得到的浅黄色晶体和从滤液中重结晶得到的晶体,用无水甲醇再次重结晶,得到白色粉末状物质(2.86 g),于 40℃ 下干燥 2 h, HPLC 测定其纯度约为 95%,杂质峰经 HPLC 验证主要为少量的脱氧果糖

嗉($\leq 4\%$)。用水溶解后经 Waters Delta 600 HPLC 制备色谱(色谱柱: SunFire Prep C18 (10 mm $\times$ 250 mm, 10 μm); 流动相: 80% 乙腈/水, 流速: 4 mL/min; 检测波长: 275 nm), 最终得到纯白色固体(HPLC 测定测得纯度在 98% 以上)。

3 结果与讨论

3.1 反应时间的选择

对图 3 所示的反应液在反应一段时间后进行 TLC 检测, 展开剂为正丁醇: 异丙醇: 水 = 5: 14: 6, 显色剂为泡利试剂, 其反应现象的 TLC 层析图如图 4(a) 至(e) (左边为原料, 右边为反应液)。

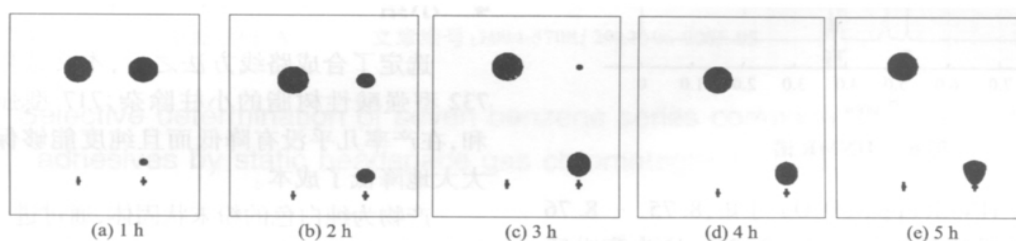


图 4 1-5 h 反应液的 TLC 图

反应 1 h 后, 溶液呈现浅棕色, 产生了少量 $R_f \approx 0.1$ 的新物质。

反应 2 h 后, 溶液呈现深棕色, 有少量的沉淀, $R_f \approx 0.1$ 新物质的量有所增加, 同时反应溶液的量有所减少, 向反应溶液中补加 10 mL 的甲醇。

反应 3 h 后, 溶液呈近黑色, 有大量的沉淀, $R_f \approx 0.1$ 新物质的量占大部分, 反应液液面有所下降, 再补加 10 mL 的甲醇。

反应 4 h 后, 反应液中已经没有原料 2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 新产生的 $R_f \approx 0.1$ 物质占绝大部分, 溶液呈黑色。

由上可知, 最佳的反应时间为 4 h, 此时原料 2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖完全转化。

3.2 纯化方法的选取

该合成所采用方法, 由于 Maillard 反应的存在, 反应液的颜色越来越深, 而且由于羟基和氨基的存在也会导致生成少量的二聚体和极微量的多聚体, 除有少量的沉淀沉于瓶底外, 大部分物质的溶解性与果糖嗉也较为接近, 这给果糖嗉的纯化带来极大的困难, 而文献^[4]中所使用的 Amberlite IR-20(H^+) 酸性树脂柱(3 $\times$ 70 cm) 除杂, Dowex 1X8(HCO_3^-) 的弱碱性阴离子树脂中和, 树脂价格昂贵, 对目标物的截留较大, 产率降低严重。

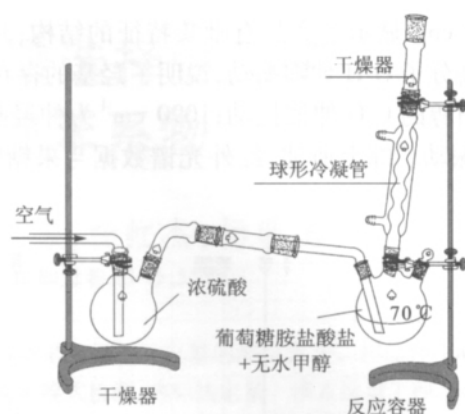


图 3 合成反应装置图

本实验参考文献^[8-9]的纯化方法, 采用价格低廉的 732 型强酸性阳树脂装柱 [2.5 cm(i.d) $\times$ 30 cm], 再用 717 型强碱性阴离子树脂中和, 再多次的甲醇重结晶, 最后采用纯甲醇重结晶的方法去除掉色素等杂质, 获得了纯度在 95% 左右的产品, 产率约为 9.5%, 采用液相制备可使纯度达到 98% 以上, 并且于 4°C 的条件下可保存 2 个月以上纯度没有降低(HPLC 分析)。

3.3 产物的结构鉴定

通过 3.2 合成得到的白色粉末状固体, 在水中的溶解度极好, 在甲醇中较低, 正丁醇中极低, 在极性低的有机溶剂中难溶解。其红外光谱(IR) 如图 5, 核磁共振波谱(包括¹HNMR 和¹³CNMR) 分别如图 6 和图 7 所示, 高分辨质谱(HRMS) 如图 8 所示。

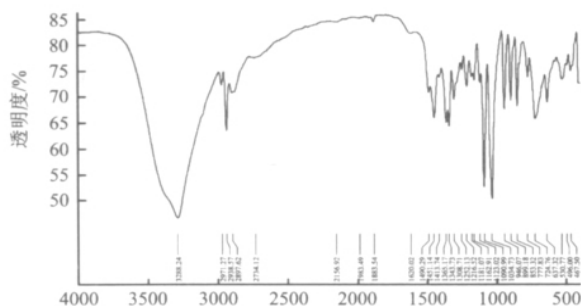


图 5 红外光谱

由图 5 的红外光谱图可知, 2538.57、1620.02、

1490.29 cm^{-1} 显示了产品有吡嗪特征的结构; 3288.24 cm^{-1} 是高分子 O-H 伸缩振动, 说明了羟基的存在; 1035 cm^{-1} 为伯醇的 C-O 伸缩振动; 1090 cm^{-1} 为仲羟基的 C-O 伸缩振动。综上所述, 红外光谱数据与果糖嗪结构相吻合。

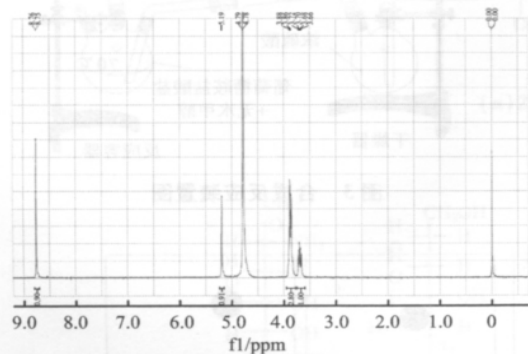


图 6 ^1H NMR 谱

由图 6 的 ^1H NMR (ppm, D_2O) 可知, 8.75 - 8.76 (2H, s) 说明有吡嗪环的存在, 5.19 (2H, d) 为和吡嗪环相连的次甲基上的 H, 3.86 - 3.88 (2H, m) 及 3.66 - 3.72 (4H, m) 是亚甲基和次甲基的化学位移。 ^1H NMR 数据与果糖嗪的结构相吻合。

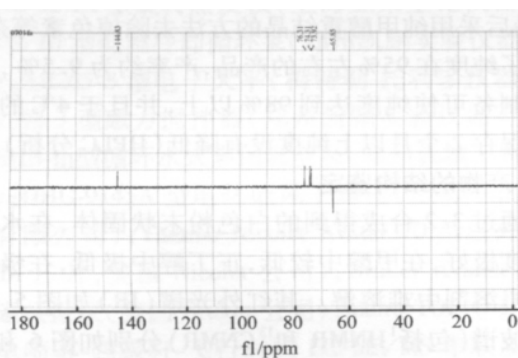


图 7 ^{13}C NMR 谱

由图 7 的 ^{13}C NMR (ppm, D_2O) 可知, 157.97 是吡嗪环上和取代基相连的 C 的化学位移, 144.83 是吡嗪环上另两个 C 的化学位移, 76.31、74.31 和 73.92 是取代基上除了伯醇碳外其他烷基上 C 的化学位移, 65.85 是伯醇 C 的化学位移。 ^{13}C NMR 数据与果糖嗪的结构相吻合。

由高分辨质谱图 8 可知, $(M + \text{Na})^+$ 为 343.1146, 产品的分子量为 320, 其中之一分子式 $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_8$ 与上述分子量吻合, 此分子式与果糖嗪的相吻合。

通过 NMR、IR、HRMS 分析, 与 Kulihiro Sutomo^[4] 等研究得出的数据相比对, 与文献完全吻合, 证明合成

的物质即为果糖嗪。

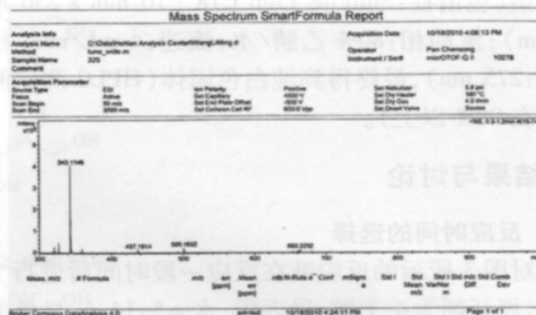


图 8 HRMS 谱

4 小结

选定了合成路线方法之后, 本文选用价格低廉的 732 型强酸性树脂的小柱除杂, 717 型强碱性树脂中和, 在产率几乎没有降低而且纯度能够保证的情况下大大地降低了成本。

产物为纯白色的粉末状固体, 通过进一步的高效液相色谱制备的纯化过程, 纯度达到了 98% 以上, 是一种很有开发价值的烟用香味补偿剂和烘烤香类增香剂。

参考文献

- [1] 卢斌斌, 李鹏, 谢剑平, 等. 烟草及烟草制品中脱氧果糖嗪含量分析 [J]. 香料香精化妆品, 2009, 3(6): 5-9.
- [2] 李琦, 叶韵华, 闫爱新, 等. 三七中 2-(1', 2', 3', 4'-四羟基丁基)-6-(2'', 3'', 4''-三羟基丁基)-吡嗪的分离、鉴定及药理活性研究 [J]. 高等学校化学学报, 2001, 11: 1824-1828.
- [3] 秦文娟, 马立斌. 掌叶半夏化学成分的研究 [J]. 中草药, 1995, 26(1): 3-6.
- [4] Lobry de Bruyn C A. Ueber das freie Chitosamin [J]. European Journal of Inorganic Chemistry, 1898, 31(2): 2476-2477.
- [5] Lobry de Bruyn C A. Un dérivé ammoniacal du fructose [J]. Roc. Trau. Chim., 1899, 18(2): 72-76.
- [6] Kuhn R, Krüger G, Haas H. J, Seeliger A. Aminozucker-Synthesen, XXIV. Pyrazinbildung aus Aminozuckern [J]. Justus Liebigs Annalen der Chemie, 1961, 644(1): 122-127.
- [7] Shoji Fujii, Reikok Ikuchia, Hideo Kushida. Formation of Fructosazine [J]. Journal of Organic Chemistry, 1966, 31(7): 2239-2241.
- [8] Giovanni Candiano, Gian Marco Ghiggeri, Rosanna Gusmano. Reaction of 2-amino-2-deoxy-D-glucose and lysine: isolation and characterization of 2, 5-bis (tetrahydroxybutyl) pyrazine [J]. Carbohydrate Research, 1988, 184: 67-75.
- [9] Shoji Fujii, Yasuzo Kosaka. Reaction between 2-amino-2-deoxy-D-glucose derivatives and sulfite. Synthesis of 2-(D-arabino-tetrahydroxybutyl)-5-(3, 4-dihydroxy-2-sulfobutyl) pyrazine [J]. Journal of Organic Chemistry, 1982, 47(24): 4772-4774.
- [10] Kulihiro Sutomo, Michiko Irie, Nobuko Mibu, et al. Formation of pyrazine derivatives from D-glucosamine and their deoxyribonucleic acid (DNA) strand breakage activity [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39(3): 792-794.