

新型高倍二肽甜味剂的制备与表征

Preparation and characterization of new high-potency dipeptide sweetener

穆小青 晏日安 谭奇坤 胡晶 周华

MU Xiao-qing YAN Ri-an TAN Qi-kun HU Jing ZHOU Hua

(暨南大学食品科学与工程系, 广东 广州 510632)

(Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

摘要: N -[N -[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -L-天冬氨酸]-L-苯丙氨酸甲酯是一种新型纽甜类似物甜味剂。以 3,4-亚甲基苯硼酸, 3,3-二甲基丙烯酸为原料, 经过 Heck 反应、酯化反应及 DIBAL-H 还原得到了 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛中间体。然后该中间体与阿斯巴甜在钯/碳催化作用下进行氢化还原氨化反应, 成功制备了目标产物 N -[N -[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -L-天冬氨酸]-L-苯丙氨酸甲酯。产物采用了核磁共振 (NMR)、红外光谱 (IR) 和高分辨质谱 (HRMS) 等技术进行结构鉴定和分析, 最后确证无误。经感官评定, 测得其甜度约为蔗糖的 3 万倍。

关键词: 高倍甜味剂; 甜度; Heck 反应; 合成; 结构鉴定

Abstract: N -[N -[3-methyl-3-(3,4-methylenedioxyphenyl)butyl]- α -L-aspartyl]-L-phenylalanine methyl ester is a new sweetener of neotame analogues. In this paper, to synthesize this sweetener, designed the strategy to obtain the key intermediate 3-methyl-3-(3,4-methylenedioxyphenyl)butyraldehyde. Use 3,4-methylenedioxybenzenboronic acid and 3,3-dimethylacrylic acid as starting material through Heck reaction, esterification and DIBAL-H reduction to get the intermediate successfully. Then the target sweetener was synthesized by the reductive amination of 3-methyl-3-(3,4-methylenedioxyphenyl)butyraldehyde with aspartame, which was catalyzed by palladium/carbon under the hydrogen atmosphere. The structure of the final product was identified by NMR, IR and HRMS, and the results matched with the desired sweetener. After being verified by sensory evaluation, the sweetness is about 30 000 times than sucrose.

Keywords: high-potency sweetener; sweetness; Heck reaction; synthesis; structural identification

阿斯巴甜是由 James Schlatter 于 1965 年在研究一种四肽促胃液分泌激素的过程中偶然发现得到的^[1]。作为第一代二肽甜味剂, 阿斯巴甜具有口感好、热量低、易制备等优点。但由于在一定使用条件下阿斯巴甜的稳定性和甜度, 使其更适于消费者生理需求和食品加工要求, 研究者们对阿斯巴甜的苯丙氨酸或天冬氨酸进行了结构修饰, 得到的二肽甜味剂有良好的稳定性。目前关于阿斯巴甜衍生物的研究较为广泛, 已经合成阿力甜^[3]、纽甜^[4]、爱德万甜^[5]等多种二肽甜味剂。其中, 应用最多的是纽甜 (图 1), 化学名为 N -[N -(3,3-二甲基丁基)-L- α -天冬氨酸]-1-甲酯, 其甜度约为蔗糖的 8 000 倍, 摄入人体后不会被分解为单个氨基酸, 苯丙酮尿症患者亦可服用, 已经被批准作为食品添加剂广泛应用于食品加工行业^[4]。

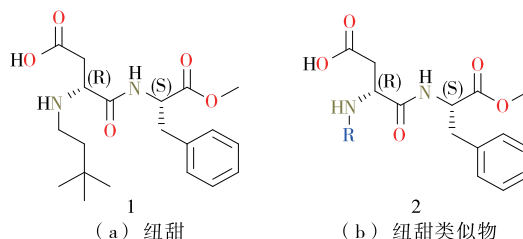


图 1 纽甜及纽甜类似物结构

Figure 1 Structure of neotame and neotame analogue

纽甜类似物是一类以天冬氨酸和苯丙氨酸为二肽母体, 由各种取代基的苯丙醛与阿斯巴甜反应制得的二肽甜味剂。较阿斯巴甜, 纽甜类似物有更好的稳定性和甜度。研究^[6-8]表明, 在纽甜类似物基团 R 上引入各种 3-苯基丙基取代基可获得比阿斯巴甜更甜的甜味剂, 且甜度强弱与基团 R 上的甲基数有关。但目前大多数纽甜类似物制备时, 合成各种取代基的苯丙醛条件苛刻, 操作复杂且产率低, 不能很好地应用于食品工业中。因而, 很多学者将目光集中在优化各种取代基的苯丙醛的制备方法

基金项目: 广东省科技计划项目 (编号: 2016B020204002)

作者简介: 穆小青, 女, 暨南大学在读硕士研究生。

通信作者: 晏日安 (1962—), 男, 暨南大学教授, 博士。

E-mail: yanrian813@163.com

收稿日期: 2019-09-19

上,以期得到更优良的甜味剂和更简易的反应条件。目前二肽甜味剂的合成中,制备各种取代基的苯丙醛主要方法有 Grignard reaction (格氏反应) 和 Friedel-Crafts (傅克烷基化) 反应。由于反应条件复杂,且伴随许多副反应的发生,因而大大降低了反应产率 and 经济效益,限制了这些甜味剂在工业生产上的应用^[9-12]。因此,增加纽甜类似物基团 R 的碳链长度,合成有关取代基的苯丙醛,是近些年研究者们想攻克的重点和难点。

为在纽甜类似物基团 R 上引入各种 3-苯基丙基取代基,试验拟设计以苯硼酸与不饱和烯酸为原料通过 Heck (赫克) 反应得到苯丙酸类似物,继而得到苯丙醛类似物及二肽甜味剂的合成路线。Heck 反应中,催化剂 Pd(OAc)₂/bpy (醋酸钯/联吡啶) 性质稳定,在有氧和高湿环境下的催化效率都很高,反应产率也高,能克服传统 Grignard reaction 和 Friedel-Crafts 反应条件复杂,副产物多的缺点^[13-15]。同时,试验还对溶剂浓度、催化剂用量、反应温度、反应时间对该反应的影响进行考察,以期筛选出最优反应条件。

1 材料与方法

1.1 仪器

磁力搅拌器:MS-H-Pro 型,美国赛洛捷克公司;
旋转蒸发器:N-1300V-WB 型,东京理化器械株式会社;
低温反应仪:PSL-1820 型,东京理化器械株式会社;
电子天平:AL204 型,瑞士梅特勒—托利多公司;
控温型显微熔点测定仪:X-5 型,北京泰克仪器有限公司;

公司;

红外光谱仪:is50 FT-IR 型,美国 Thermo 公司;

电子轰击电离质谱仪:QTRAP4500 型,美国 Thermo 公司;

核磁共振波谱仪:AVANCE III 型,瑞士布鲁克公司。

1.2 样品与试剂

3,4-亚甲基苯硼酸(99%)、3,3-二甲基丙烯酸(99%)、丙酮、醋酸钯、联吡啶、氯化亚砷、二异丁基氢化铝、钯/碳:分析纯,萨恩化学技术(上海)有限公司;

N- α -L-天冬氨酰-L-苯丙氨酸甲酯:分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

甲醇、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯:分析纯,广州市光华科技股份有限公司;

冰乙酸、正丁醇:分析纯,天津市永大化学试剂有限公司;

氘代-甲醇、氘代-氯仿:99.8%, Cambridge Isotope Laboratories。

1.3 试验方法

1.3.1 合成路线 如图 2 所示,先经过 Heck 加成反应、酯化反应、DIBAL-H 合成中间体 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛,后利用 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛和阿斯巴甜通过催化加氢合成终产物 *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -L-天冬氨酰}-L-苯丙氨酸甲酯。

(1) 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸(5)的合

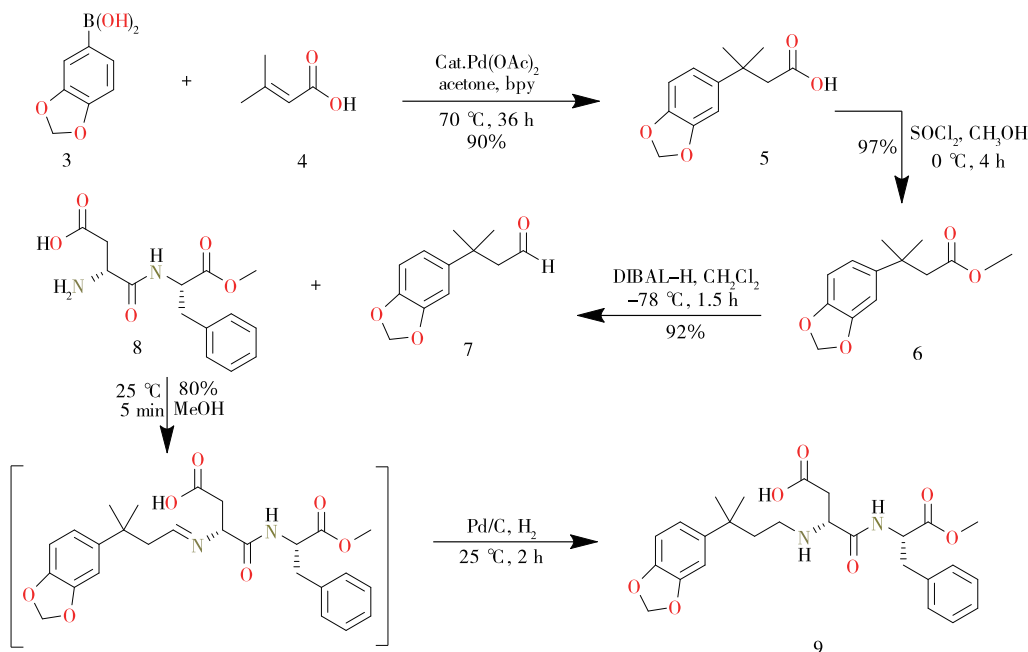


图 2 *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -L-天冬氨酰}-L-苯丙氨酸甲酯的合成路线
Figure 2 Synthetic route of *N*-{*N*-[3-methyl-3-(3,4-methylenedioxyphenyl)butyl]- α -L-aspartyl}-L-phenylalanine methyl ester

成:向 100 mL 圆底烧瓶中依次加入 3,4-亚甲基苯硼酸(1.327 g, 8 mmol)、丙酮水溶液($V_{\text{丙}}/V_{\text{水}}=5:1$, 24 mL)、3,3-二甲基丙烯酸(0.400 g, 4 mmol)、醋酸钯(0.054 g, 0.24 mmol)、联吡啶(0.062 g, 0.4 mmol), 加热至 70 °C 并冷凝回流, 磁力搅拌 36 h 后, 薄层层析监测(TLC)。反应结束后冷却至室温, 硅藻土过滤除去醋酸钯, 然后用二氯甲烷洗涤滤渣, 并用二氯甲烷(80 mL $\times$ 3)萃取有机层, 水(65 mL)洗涤有机层, 最后用无水硫酸钠干燥、过滤, 减压除去溶剂, 柱层析纯化(石油醚: 乙酸乙酯=300:10~300:13), 得到白色固体产物 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸^[15](0.792 5 g, 3.6 mmol), 产率 90%。

(2) 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸甲酯(6)的合成:向 150 mL 圆底烧瓶中依次加入 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸(1.121 g, 5 mmol)、无水甲醇(50 mL), 于 0 °C 下搅拌反应, 向反应瓶中缓慢滴加氯化亚砷(2.5 mL), 室温下磁力搅拌 4 h, TLC 监测(石油醚: 乙酸乙酯=10:1, $R_f=0.5$, 碱性高锰酸钾显色)。反应结束后, 减压除去溶剂, 柱层析进一步纯化(石油醚: 乙酸乙酯=300:3~300:4), 得到无色透明液体 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸甲酯^[16](1.156 g, 4.7 mmol), 产率 97%。

(3) 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛(7)的合成:向 100 mL 底烧瓶中依次加入 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸甲酯(236.27 mg, 1 mmol)、无水二氯甲烷(20 mL), 反应置于-78 °C 下搅拌。在氮气保护下, 向反应瓶中缓慢滴加二异丁基氢化铝(DIBAL-H, 1.0 mol/L in THF, 1.2 mL, 1.2 mmol), -78 °C 下搅拌反应 1 h, TLC 监测(石油醚: 乙酸乙酯=10:1, $R_f=0.4$, 茴香醛显色)。反应结束后, 向反应液中加入饱和氯化铵溶液(20 mL)以淬灭反应, 搅拌至室温。搅拌结束后, 用二氯甲烷(20 mL $\times$ 3)萃取有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥、过滤, 最后减压除去溶剂, 柱层析进一步纯化(石油醚: 乙酸乙酯=150:3), 得到无色透明液体^[17](189.72 mg, 0.92 mmol), 产率 92%。

(4) *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -*L*-天冬氨酸酯}-*L*-苯丙氨酸甲酯(9)的合成:向 50 mL 圆底烧瓶中依次加入 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛(206.24 mg, 1 mmol), 体积分数为 80% 的甲醇(10 mL), *N*- α -*L*-天冬氨酸-*L*-苯丙氨酸-1-甲酯(294.20 mg, 1 mmol), 搅拌 5 min。然后在氮气保护下, 向反应液中加入 10% 钯碳(80 mg), 常温常压氢气条件下反应 24 h。TLC 监测(二氯甲烷: 甲醇: 乙酸=2.0:1.0:0.1, $R_f=0.2$, 茚三酮显色)。反应结束后, 硅藻土过滤除去钯碳, 然后用二氯甲烷洗涤滤渣, 减压除去溶剂, 柱层析进一步纯化(石油醚: 乙酸乙酯: 乙酸=200:25:2), 得到白色固体产物^[18-19](348.9 mg, 0.72 mmol), 产率 72%, 熔程 82~84 °C。

1.3.2 反应条件的优化 以 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸(5)的产率为指标, 分别选取 3,4-亚甲基苯硼酸与 3,3-二甲基丙烯酸摩尔比 2:1, 丙酮溶液体积浓度为 80%, Pd(OAc)₂ 摩尔分数 5%, 反应温度 60 °C, 反应时间 48 h。固定其他影响因素, 分别考察溶剂浓度为 70%, 80%, 90%, 100%, 催化剂摩尔分数为 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 反应温度为 50, 60, 70, 80, 90 °C, 反应时间为 24, 36, 48, 60, 72 h 时 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸(5)的产率变化, 确定最适反应条件。

1.3.3 产物甜度的感官测定 根据文献[20]修改如下:

(1) 对照甜味剂溶液的配制:在 25 °C 下, 称取 1 g 蔗糖加蒸馏水稀释至 10 mL, 即为 100 g/L 的蔗糖溶液, 依次配制 100, 200, 300, ..., 900, 1 000 g/L 的蔗糖溶液。

在 25 °C 下, 称取 1 g 阿斯巴甜加蒸馏水稀释至 1 L, 即为 1 g/L 的阿斯巴甜溶液, 依次配制 1, 2, 3, ..., 9, 10 g/L 的阿斯巴甜溶液。

(2) 待测甜味剂溶液的配制:在 25 °C 下, 称取 10 mg 样品加蒸馏水稀释至 1 L, 即为 10 mg/L 的样品溶液。依次配制 10, 20, 30, ..., 90, 100 mg/L 的样品溶液。

(3) 相对甜度测定:待测甜味剂的甜度为相对甜度, 采用感官品尝的方式来测定, 评定小组由 10 人(男女比例 1:1)组成, 分别进行品尝。品尝待测甜味剂溶液前, 用纯净水漱口, 间隔 15 min 后再品尝下一个待测样品。判断系列浓度样品中与对照组溶液的甜度相同或相近的甜味剂浓度, 按式(1)计算样品的相对甜度。

$$s = \frac{c_1}{c_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

s ——相对甜度, %;

c_1 ——对照甜味剂浓度, mg/L;

c_2 ——等甜度样品浓度, mg/L。

1.4 数据处理

化合物结构的绘制及结构分析、化学反应路线分析, ChemBioOffice 2014; 化合物¹H NMR、¹³C NMR 谱图的分析, 结构的确定 MestReNova 12.0; IR 谱图的分析, OMNIC8.2; MS 谱图的分析, SCIEX OS1.4; 反应条件、甜度分析, Microsoft Excel 365。

2 结果与讨论

2.1 产物结构表征

2.1.1 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸(5)结构的鉴定

(1) ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.85 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 5.91 (s, 2H), 2.58 (s, 2H), 1.40 (s, 6H)。

(2) ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 177.98, 148.20, 146.24, 142.75, 119.01, 108.45, 107.10, 101.56, 78.10,

77.68, 77.26, 48.82, 37.59, 29.80。

(3) IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3 437, 3 070, 2 977, 2 913, 2 681, 2 603, 1 818, 1 694, 1 599, 1 504, 1 429, 1 412, 1 373, 1 320, 1 254, 1 229, 1 186, 1 119, 1 036, 937, 904 cm^{-1} 。

(4) HRMS (ESI^+) m/z $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$, 223.096 6; (ESI^-) m/z $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$, 221.081 4。

2.1.2 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸甲酯(6)结构的鉴定

(1) ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.87 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.80 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.92 (s, 2H), 3.55 (s, 3H), 2.57 (s, 2H), 1.41 (s, 6H)。

(2) ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 172.62, 148.16, 146.16, 143.00, 119.00, 108.40, 107.12, 101.54, 78.14, 77.72, 77.29, 51.88, 48.99, 37.71, 29.80。

(3) IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3 349, 2 952, 2 835, 1 730, 1 488, 1 432, 1 345, 1 235, 1 112, 1 024, 934, 906, 858, 808, 725, 640 cm^{-1} 。

(4) MS ($\text{ESI}, +\text{ve}$) m/z 237.1 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; 259.1 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$ 。

2.1.3 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛(7)结构的鉴定

(1) ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 9.50 (t, $J = 3.0$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.81 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.94 (s, 2H), 2.62 (d, $J = 3.0$ Hz, 2H), 1.42 (s, 6H)。

(2) ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 203.37, 148.25, 146.18, 141.82, 118.81, 108.37, 106.80, 101.37, 57.03, 37.03, 30.03。

(3) IR (KBr) $\nu_{\max}$ 2 964, 2 737, 1 716, 1 611, 1 487, 1 431, 1 341, 1 231, 1 111, 1 036, 934, 859, 810, 727, 641 cm^{-1} 。

(4) GC-MS (EI) m/z 206.1。

2.1.4 *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -*L*-天冬氨酰}-*L*-苯丙氨酸甲酯(9)结构的鉴定

(1) ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.53 (s, 1H), 7.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.17~7.11 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 6.70 (s, 2H), 5.85 (s, 2H), 4.72 (td, $J = 8.1, 5.4$ Hz, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.13 (dd, $J = 13.9, 5.4$ Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 13.9, 8.5$ Hz, 1H), 2.59 (d, $J = 33.5$ Hz, 4H), 1.98 (s, 2H), 1.22 (d, $J = 2.8$ Hz, 6H)。

(2) ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 175.23, 171.76, 168.84, 148.14, 145.99, 141.77, 136.62, 129.54, 128.84, 127.36, 118.81, 108.29, 106.82, 101.25, 58.78, 54.32, 52.73, 44.01, 41.20, 37.90, 37.07, 30.06, 29.72, 29.46。

(3) IR (KBr) $\nu_{\max}$ 2 956, 1 799, 1 739, 1 686, 1 550,

1 503, 1 489, 1 433, 1 344, 1 233, 1 113, 1 039, 985, 911, 814, 730, 702, 645 cm^{-1} 。

(4) HRMS (ESI^+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_7$, 485.227 3。

根据 NMR 的分析方法对终产物 *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -*L*-天冬氨酰}-*L*-苯丙氨酸甲酯进行 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 分析, 其 NMR 谱图如图 3 所示。由 ^1H NMR 可知, δ 8.53 (s, 1H) 为终产物肽键氨基上的 1 个氢; 7.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.70 (s, 2H) 分别为苯丙氨酸甲酯苯环上的 5 个氢; 7.17~7.11 (m, 2H), 6.80 (s, 1H) 为 3,4-亚甲二氧基苯基苯环上的 3 个氢; 5.85 (s, 2H) 为 3,4-亚甲二氧基中间碳上面的 2 个氢; 4.72 (td, $J = 8.1, 5.4$ Hz, 1H) 为 *L*-苯丙氨酸甲酯叔碳上的 1 个氢; 3.91 (s, 1H) 为 *L*-天冬氨酰叔碳上的 1 个氢; 3.65 (s, 3H) 为 *L*-苯丙氨酸甲酯伯碳上的 3 个氢; 3.13 (dd, $J = 13.9, 5.4$ Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 13.9, 8.5$ Hz, 1H) 为 *L*-苯丙氨酸甲酯仲碳上的 2 个氢; 2.59 (d, $J = 33.5$ Hz, 4H) 是 *L*-天冬氨酰仲碳的 2 个氢和 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基上靠近氮的仲碳上的 2 个氢; 1.98 (s, 2H) 为 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基上靠近苯环的仲碳上的 2 个氢; 1.22 (d, $J =$

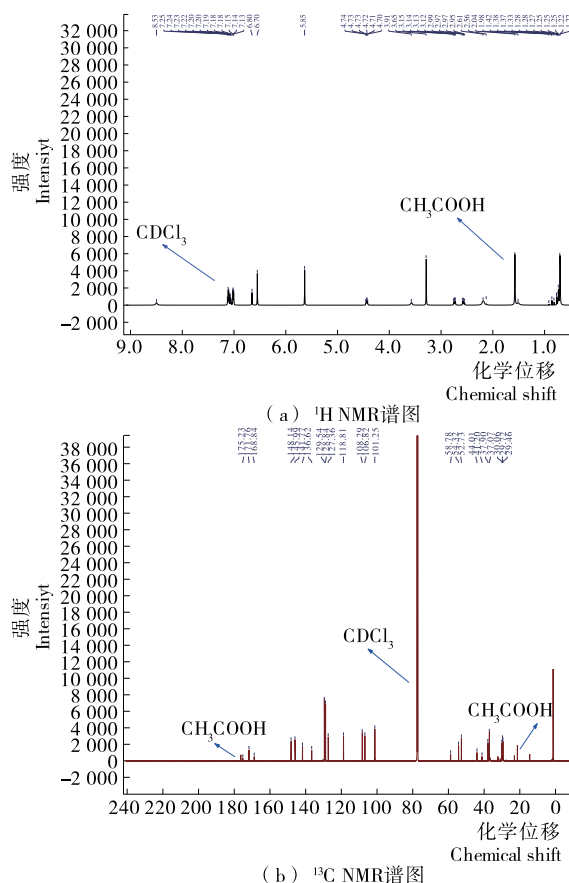


图3 化合物9的 ^1H NMR和 ^{13}C NMR谱图
Figure 3 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR of compound 9

2.8 Hz, 6H) 为 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基上 2 个甲基上的 6 个氢。

由 ^{13}C NMR 谱可知, δ 175.23, 171.76, 168.84 为 3 个羰基上的碳; 148.14, 145.99, 141.77, 136.62, 129.54, 128.84, 127.36, 118.81, 108.29, 106.82 为 2 个苯环上的碳; 101.25 为 3,4-亚甲二氧基苯基上的仲碳; 58.78 为 *L*-天冬氨酸上的叔碳; 54.32 为 *L*-苯丙氨酸甲酯上的叔碳; 52.73 为 *L*-苯丙氨酸甲酯上的伯碳; 44.01 为 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基上靠近苯环的仲碳; 41.20 为 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基上靠近氮的仲碳; 37.90, 37.07 分别为 *L*-天冬氨酸和 *L*-苯丙氨酸甲酯的仲碳; 30.06, 29.72, 29.46 分别为 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基上的季碳和 2 个伯碳。

由 IR 图谱数据可知, 与阿斯巴甜相比, 终产物在 $1\,233\text{ cm}^{-1}$ 处出现新的吸收峰且强度很强, 为 C—O 键伸缩振动的特征吸收峰。结合 NMR、IR 和 HRMS, 可以确定 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁醛与阿斯巴甜发生了还原氨化反应, 其产物为 *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -*L*-天冬氨酸}-*L*-苯丙氨酸甲酯。

2.2 反应条件的优化与筛选

上述 1.3.2 及 1.3.3 的方法进行单因素试验, 结果如图 4 所示。

由图 4(a)可知, 当溶剂体积浓度为 80% 时, 结果与文献[15]报道的一致, 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸的产率最高, 可能是因为 80% 的丙酮溶液能够为 Heck 反应提供良好的反应环境。溶剂浓度过低, 水分过多, 对反应物有稀释作用, 不利于反应的发生; 浓度过高, 水提供的质子太少, 降低了反应效率。由图 4(b)可知, 随着催

化剂 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 添加量的增加, 产物出现先增加后平稳的趋势, 可能是因为随着催化剂的增加, 反应速率增大, 随后催化剂达到饱和, 催化速率趋于平衡, 产物得率趋于平稳。如图 4(c)所示, 随着反应温度的升高, 产率呈现先逐渐增加后降低的趋势, 可能是因为随着温度的升高, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 的催化活性逐渐提高, 达到一定温度后, 过高的温度会使催化剂活性降低, 产率随之降低。随着反应时间的延长, 产物得率先增加后降低, 当反应时间为 72 h 时, 反应产率急剧降低, 可能是因为随着时间的延长, 副反应增加, 且催化剂的耗能增加, 抑制了 Heck 反应的发生。

2.3 产物甜度

通过试验小组的感官评价得到数据, 将各个浓度代入式(1)即可得到待测样品的相对甜度。以待测样品溶液浓度为横坐标, 等甜度的蔗糖溶液、阿斯巴甜浓度为纵坐标, 分别制得关系曲线, 如图 5 所示。

由图 5 可知, *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -*L*-天冬氨酸}-*L*-苯丙氨酸甲酯的甜度约为蔗糖的 3 万倍, 阿斯巴甜的 150 倍, 与专利[7]中报道的甜度一致。其甜味出现较蔗糖要缓慢, 有一定的滞后性, 但持续时间较长, 甜味纯正, 无糖精钠、AK 糖等甜味剂的苦涩感和金属味。

3 结论

以 3,4-亚甲基苯硼酸、3,3-二甲基丙烯酸为原料, 通过 Heck 反应、酯化反应、DIBAL-H 还原及氢气还原氨化 4 步反应, 成功合成了二肽甜味剂 *N*-{*N*-[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁基]- α -*L*-天冬氨酸}-*L*-苯丙氨酸甲

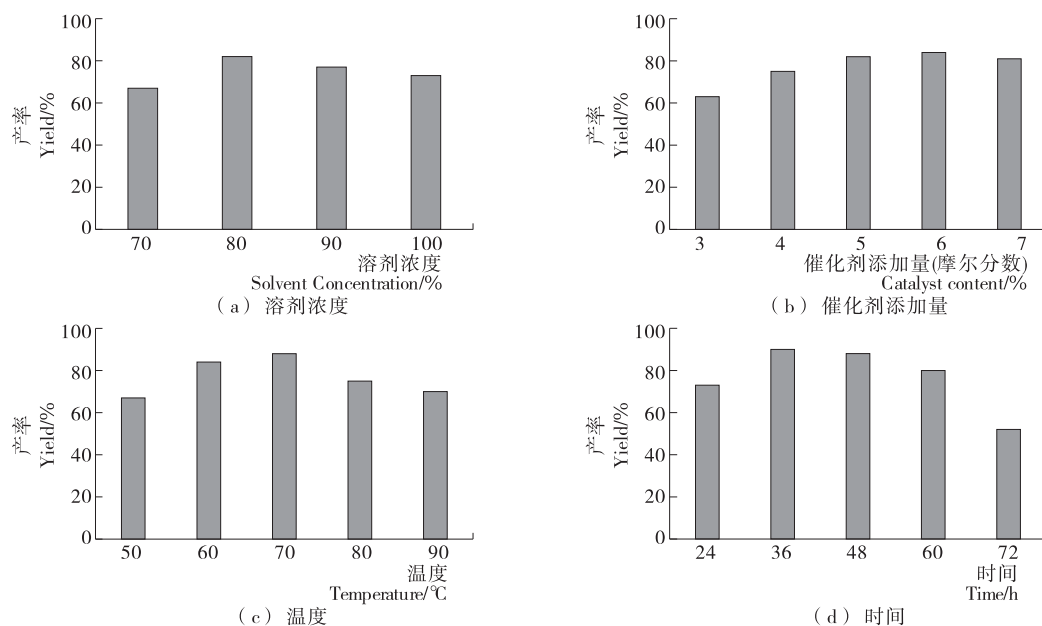


图 4 不同因素对 3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧基苯基)丁酸产率的影响

Figure 4 Effect of different factors on synthesis of 3-methyl-3-(3,3-methylenedioxyphenyl)butyric acid

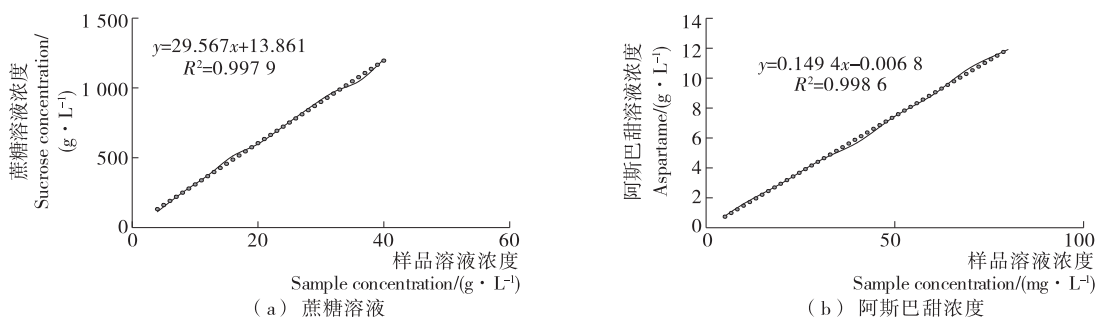


图5 蔗糖和阿斯巴甜质量浓度与产物质量浓度的关系

Figure 5 The concentration relationship between sucrose, aspartame and final sweetener

酯。用NMR、IR、HRMS等技术对中间产物及终产物进行结构分析,研究发现中间产物3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧苯基)丁酸甲酯为新化合物,终产物 N -{ N -[3-甲基-3-(3,4-亚甲二氧苯基)丁基]- α - L -天冬氨酰}- L -苯丙氨酸甲酯的结构确证无误。经感官评价,验证其甜度约为蔗糖的3万倍。

试验合成醛类的路线突破了以往难以在纽甜类似物的 N -端引入苯丙基衍生基团的难点,为拓展二肽甜味剂的多样性提供了新思路。此外,试验所用原料经济易得,反应条件易控制,操作简单且产率较高,为合成高倍甜味剂提供了一种高效的方法。

参考文献

- [1] 刘树楷,郑建仙. Aspartame 以外的二肽甜味剂: 上[J]. 化工时刊, 1993(6): 3-8.
- [2] 范长胜. 氨基酸二肽甜味剂的开发研究进展[J]. 工业微生物, 2002(2): 37-40.
- [3] BRENNAN T M, HENDRICK M E. Branched amides of L -aspartyl- D -amino acid dipeptides: US, 4411925 [P]. 1983-10-25.
- [4] 余海星. 二肽甜味剂—纽甜[J]. 中国食品添加剂, 2008(1): 54-57.
- [5] AMINO Y, MORI K, TOMIYAMA Y, et al. Development of new, low calorie sweetener: New aspartame derivative[J]. Sweetness and Sweeteners, 2008, 979: 463-480.
- [5] 蔡才,王红波,王亚珍,等. 纽甜的合成及应用现状[J]. 化学与生物工程, 2019, 36(5): 1-6.
- [6] NOFRE C, TINTI J M. Compounds useful as sweetening agents and process for their preparation: WO, 1994011391A1 [P]. 1994-05-26.
- [7] Ajinomoto Co I. N -alkylaspartyl dipeptide ester derivatives and sweeteners: EP, 1114828A1 [P]. 2001-07-11.
- [8] MOSSEL E, FORMAGGIO F, CRISMA M, et al. Aspartame dipeptide analogues: Effect of number of side-chain methylene group spacers and C - α -methylation in the second position[J]. Tetrahedron: Asymmetry, 1997, 8(8): 1305-1314.
- [9] 陈中元,严剑峰. 格氏试剂的种种化学特性和新应用的研究[J]. 杭州化工, 2006(3): 20-22.
- [10] HATANNO M, SUZUKI S, ISHIHARA K. Highly efficient alkylation to ketones and aldimines with grignard reagents catalyzed by Zinc (II) chloride[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(31): 9998-9999.
- [11] GUO Hui, ZHUANG Yu-wei, CAO Jian, et al. Highly chemo- and regioselective reaction of hydroxybenzenes in acidic ionic liquid [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2013, 34(9): 2594-2596.
- [12] CALLOWAY N O. The friedel-crafts syntheses [J]. Chemical Reviews, 1935, 17(3): 327-392.
- [13] LIN Shao-hui, LU Xi-yan. Cationic Pd (II)/bipyridine-catalyzed conjugate addition of arylboronic acids to β , β -disubstituted enones: Construction of quaternary carbon centers[J]. Organic Letters, 2010, 12(11): 2536-2539.
- [14] VAUTRAVERS N R, BREIT B. Rhodium(I)-catalyzed 1,4-addition of arylboronic acids to acrylic acid in water: One-step preparation of 3-arylpropionic acids[J]. Synlett, 2011(17): 2517-2520.
- [15] LIU Rui, YANG Zhen-yu, NI Yu-xin, et al. Pd (II)/bipyridine-catalyzed conjugate addition of arylboronic acids to α , β -unsaturated carboxylic acids: Synthesis of β -quaternary carbons substituted carboxylic acids[J]. The Journal of Organic Chemistry, 2017(82): 8023-8030.
- [16] FAIRHURST R A, SANDHAM D A, BRUCE L, et al. Quinoline-2-one derivatives for the treatment of airways diseases: WO, 2004087142A1 [P]. 2004-10-14.
- [17] TAYLOR J E, DANIELS D S B, SMITH A D. Asymmetric NHC-catalyzed redox α -amination of α -aroyloxyaldehydes[J]. Organic Letters, 2013, 15(23): 6058-6061.
- [18] AMINO Y, YUZAWA K, TAKEMOTO T. Process for producing and purifying aspartame derivative as sweetener: WO, 2001018034A1 [P]. 2001-03-15.
- [19] HAN Guo-jun, TAMAKI M, HRUBY V J. Fast, efficient and selective deprotection of the tert-butoxycarbonyl (Boc) group using HCl/dioxane (4 M) [J]. Journal of Peptide Research, 2001, 58(4): 338-341.
- [20] 吴美红,郑建仙. 超高倍甜味剂 N -[3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基]-阿斯巴甜类似物的合成研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(6): 1-5.