

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.11.017

光学活性薄荷醇异构体的合成、衍生及分离

戈光琼, 付延明, 沈昊, 吴祥, 朱成峰, 李有桂

(合肥工业大学 化学与化工学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: L-薄荷醇是一种广泛应用于食品和医药行业的重要香料, 因其结构中存在 3 个手性中心, 使得每种立体异构体呈现不同的性质; 同时由于现有工艺发展的局限性, 较难获得光学活性的薄荷醇异构体。文章从具有光学活性的薄荷醇出发, 合成得到单个异构体, 并对其进行酯化衍生反应, 基于此, 确定了相对高效的手性液相分离方法。

关键词: L-薄荷醇; 异构体; 光学活性; 酯化衍生; 分离方法

中图分类号: O623.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-5060(2023)11-1542-07

Synthesis, derivatization and separation of menthol isomers with optical activity

GE Guangqiong, FU Yanming, SHEN Hao, WU Xiang, ZHU Chengfeng, LI Yougui

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: L-menthol is an important spice which has been widely used in food and pharmaceutical industry, however, each stereoisomer presents different properties due to the three chiral centers in its structure. At the same time, it is difficult to obtain optically active menthol isomers because of the limited development of the separation technology. In this paper, single isomer was synthesized from the pure menthol with optical activity and further esterification derivatization was carried out. Based on this, a relatively efficient chiral liquid phase separation method was determined.

Key words: L-menthol; isomer; optical activity; esterification derivatization; separation method

0 引言

L-薄荷醇凭借其独特的清凉、杀菌和止痒等多种功效^[1-3], 在精细化学品、香精香料、医疗卫生和食品^[4-7]等方面被广泛应用; 由于薄荷醇自身的结构特性, 还可以用作药物中间体^[8]或者通过不对称催化反应^[9]来制备相应的旋光性化合物等。

L-薄荷醇分子式中含有 3 个手性碳中心, 对应着 4 对对映异构体和 8 个立体异构体^[8-9], 如图 1 所示。当薄荷醇六元环上的取代基所处平伏键和直立键的位置不同时, 会导致每种异构体之间的能量存在差异, 决定了每种立体异构体的特性, 其中 D/L-薄荷醇具有相对更明显的清凉功

效, 这也使其具有更高的工业价值^[4-7]。

对于薄荷醇的合成路线, 已有学者进行了研究。文献[10]报道以 $ZnBr_2/SiO_2$ 为催化剂, 以香茅醛为原料制备 L-薄荷醇, 但获得的产物几乎为异胡薄荷醇; 文献[11]报道了在 β -环糊精存在下, 使用 $Rh-Al_2O_3$ 催化剂催化百里酚加氢(转化率接近 95%), 对 D/L-薄荷醇具有中等的选择性; 文献[12]报道了一种实用的 $Co-PMA-PZ@SiO_2-800$ MOF 催化剂, 在 150 °C、50 bar 的氢气氛围中, 百里酚转化率可以达到 92%, 并对 D/L-薄荷醇具有较好的选择性。

以上研究表明, 现有方法合成的薄荷醇大多为外消旋体, 而通过不对称催化来选择性地合成

收稿日期: 2022-04-12; 修回日期: 2022-05-27

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(2108085QE233)

作者简介: 戈光琼(1997—), 女, 安徽六安人, 合肥工业大学硕士生;

付延明(1986—), 男, 山东济南人, 博士, 合肥工业大学讲师, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: ymfu@hfut.edu.cn;

李有桂(1969—), 男, 安徽宿州人, 博士, 合肥工业大学教授, 博士生导师。

单一构型的薄荷醇难度较大,且使用的催化剂价格昂贵并难以合成^[13-14]。基于此,本文通过手性液相的方式来研究薄荷醇色氨酸酯的分离情况,并建立一种相对高效地分离和鉴定薄荷醇光学异构体的方法。

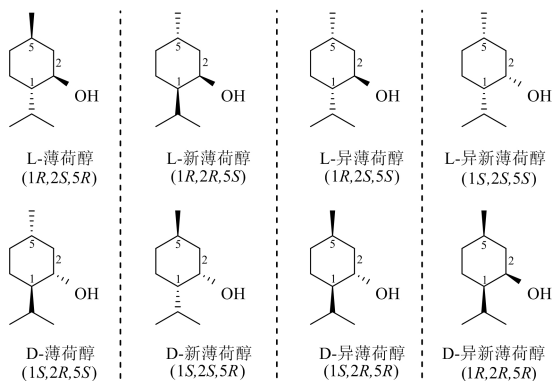


图 1 薄荷醇 8 种立体异构体的结构

在药学和生理学研究领域,手性化合物已引起人们的普遍兴趣^[15-16],而高效液相色谱手性固定相法(high performance liquid chromatography-chiral stationary phase, HPLC-CSP)在对映体化合物的分离分析和制备方面表现出独特的优势^[17]。手性固定相(chiral stationary phase, CSP)是整个高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)系统的关键部件,直接决定了分离的效果,使用具有良好手性识别能力的手性固定相进行直接分离,可作为一种既适用于制备又适用于分析的简单实用方法,并已经得到了显著发展^[18-20]。

目前,基于半合成大分子中特有的各种不同分子和超分子结构特点开发出的多糖类手性固定相的适用样品类型范围十分广泛,这使得利用合适的手性固定相以及流动相进行对映体的拆分往往具有高效的结果^[21]。

本文采用单一构型的手性氨基酸^[22]对单一构型对映体的薄荷醇进行酯化衍生化反应,不仅有助于增强薄荷醇在紫外波长下的吸收从而极大提高紫外的检测效果,同时衍生出的酯具有很好的化学和光学稳定性。经过手性氨基酸衍生后的薄荷酯也是具有立体结构差异的多手性中心非对映异构体,根据非对应异构体的空间结构以及性质的差异^[23],在 HPLC-CSP 系统中确定合适的分离参数以达到合适的分离效果,从而能够建立一种针对经手性氨基酸衍生后的薄荷醇的分离和检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

所有 HPLC 实验均使用配备有 Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器、Agilent 1260 Infinity VL 型四元泵和 Agilent 1260 Infinity VWD 可变波长检测器的 Agilent 1260 HPLC 仪器(Agilent Technologies, Santa Clara, USA)进行操作;Workstation 软件 Agilent OpenLAB CDS DESKTOP-TDDMRJ7 用于仪器控制,数据采集和数据处理软件为 Agilent OpenLAB Data Analysis (版本 2. 203. 0573)。分离系统中手性柱为新型键合型淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱(Chiralpak IA)、新型键合型纤维素-三(3,5-二氯苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱(Chiralpak IC)、硅胶表面涂敷型直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱(Chiralpak AD)和硅胶表面涂敷型纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱(Chiralpak OD);正相系统的 HPLC 分离是在 20 °C 下以不同体积比的异丙醇、正己烷混合溶剂作为流动相,并以一定的流动相流速进行,紫外检测在波长为 254 nm 下进行。

本文使用的起始原料 D/L-薄荷醇购于安耐吉公司,反应中使用的试剂环己烷、无水硫酸镁、4-二甲氨基吡啶、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、二碳酸二叔丁酯等均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;L-色氨酸、重铬酸钾、硼氢化钠、盐酸、硫酸、反应溶剂四氢呋喃、甲醇以及 HPLC 级溶剂(如异丙醇和正己烷)等均购于国药集团化学试剂公司。

1.2 不同构型薄荷醇以及色氨酸酯的合成

8 种薄荷醇异构体的合成线路如图 2 所示。首先,分别从已有的单一构型的 D/L-薄荷醇(3.12 g, 20 mmol)出发,通过氧化合成得到单一构型的孟酮(3.08 g, 99.5%),再与吡咯经由烯胺中间体水解后转化为 2 种不同构型的孟酮(0.65 g, 21.0%),由此得到 4 种构型不同的孟酮;进一步将其还原,并通过柱层析进行分离,最终可以合成出其余构型的薄荷醇(新薄荷醇 0.74 g, 24.1%;新异薄荷醇 0.15 g, 4.56%)。由于 D/L-异薄荷醇的结构不够稳定而未得到,其余每种醇和酮的化学结构均由¹H NMR 和¹³C NMR 表征,且与文献^[24]中的结构一致。8 种非对应异构体薄荷醇色氨酸酯的合成线路如图 3 所示。

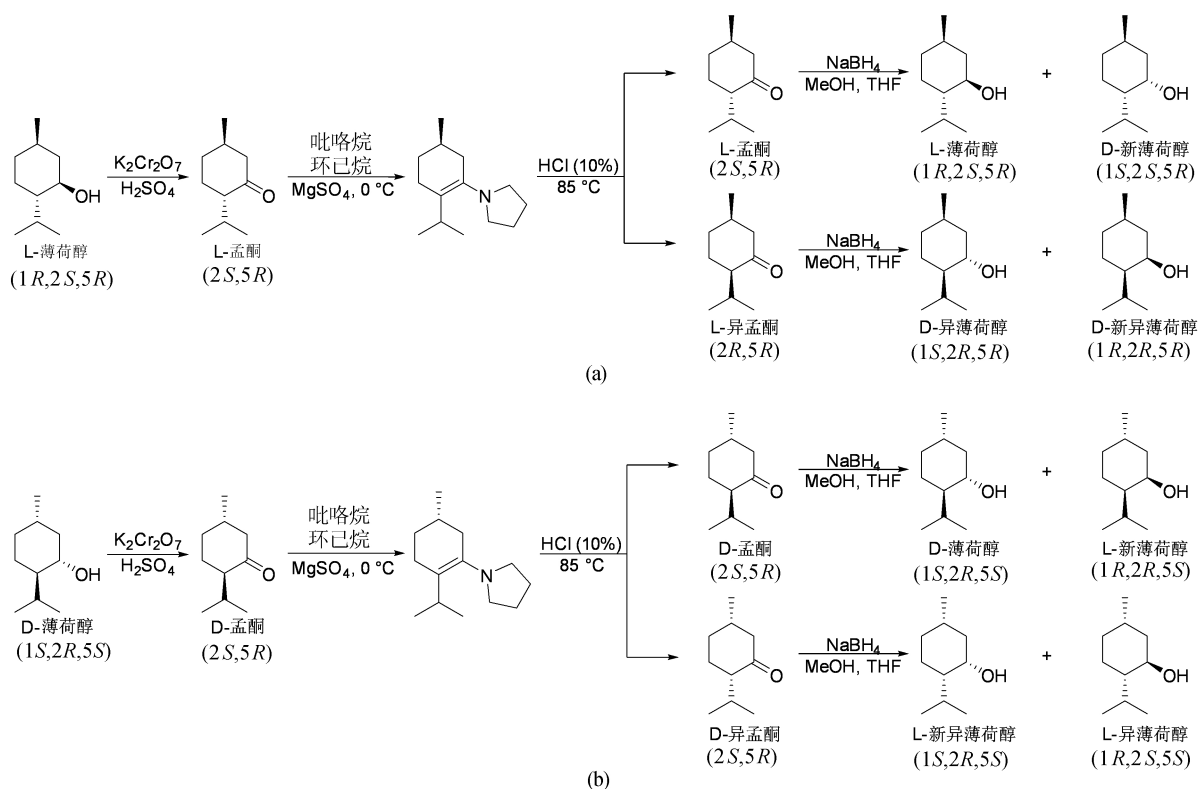


图 2 8 种薄荷醇异构体的合成线路

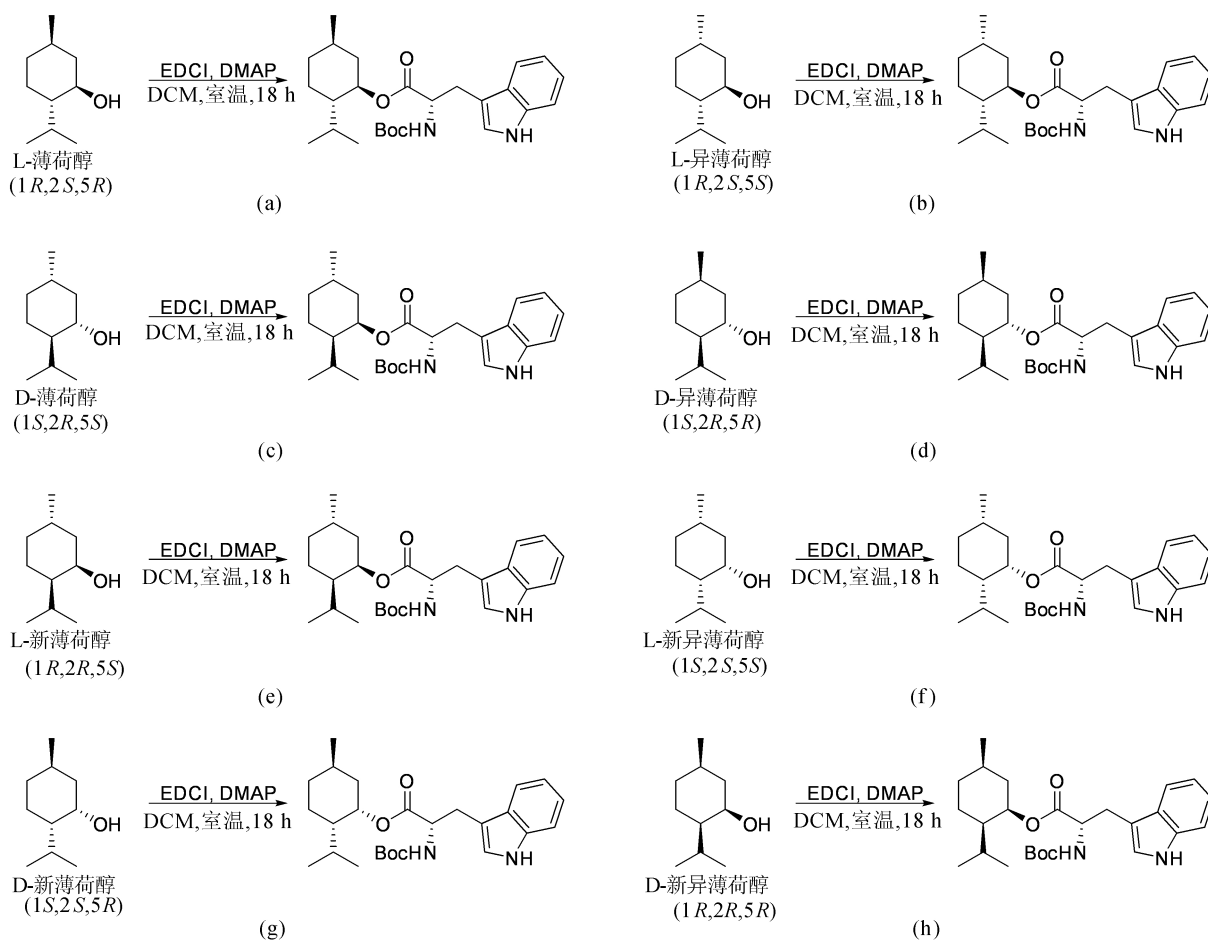


图 3 8 种非对应异构体薄荷醇色氨酸酯的合成线路

将已得到的不同构型的薄荷醇(0.78 g, 5 mmol),在EDCI(1.05 g, 5.5 mmol)和DMAP(0.061 g, 0.5 mmol)的作用下分别与Boc-L-色氨酸(1.52 g, 5 mmol)发生缩合反应,从而得到非对应异构体薄荷醇色氨酸酯(2.19 g, 99.1%),每种酯的化学结构由¹H NMR和高分辨率质谱进行表征确认。

2 结果与讨论

2.1 手性分离机制

直接手性分离的机制是通过手性固定相与作为分析物的对映体之间发生相互作用,从而形成瞬时非对映体复合物而实现分离。复合物的形成是氢键、偶极-偶极相互作用(定向力)、偶极-诱导偶极(诱导力)、诱导偶极-瞬时偶极(分散力)、 π - π 相互作用、静电相互作用和包容复合的结果^[25]。

分析物的分离效果直接由手性固定相决定,对映体在手性柱上的分离依靠溶质和手性固定相上的极性氨基甲酸酯基团之间的相互作用,而后者则通过利用手性固定相和薄荷醇色氨酸酯中的C=O和N-H基团的氢键与溶质发生相互作用。此外,手性固定相上的C=O基团和薄荷醇色氨酸酯上的C=O基团之间还会发生偶极-偶极作用。

薄荷醇色氨酸酯和螺旋直链淀粉衍生物同时具有多个手性中心,因此聚合物所含有大量手性活性位点与溶质发生相互作用的概率较高,可产生不同的相互作用效果,最终达到将非对映体

分离的效果。

2.2 薄荷醇色氨酸酯的分离条件

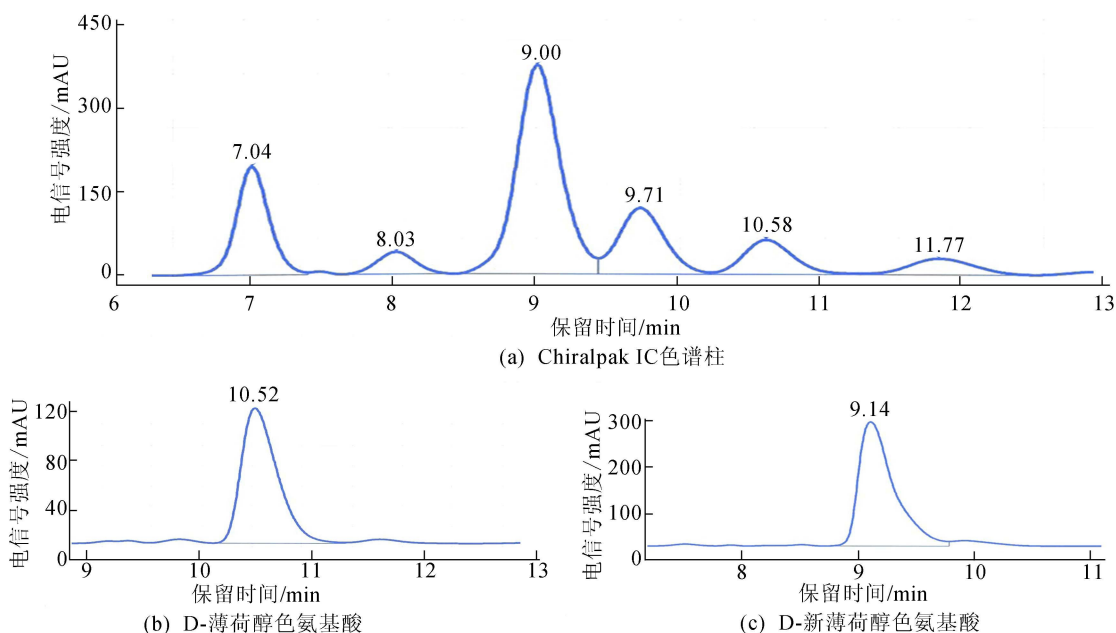
2.2.1 手性柱的筛选

将得到的8种经过结构表征的酯分别使用Chiralpak IA、IC、AD、OD色谱柱(250 mm \times 4.6 mm \times 5 μ m),在HPLC-CSP中对分析物进行分离和检测。流动相为异丙醇、正己烷,两者体积比为1:9,流速为1.0 mL/min,检测波长为254 nm,柱温设定为20 $^{\circ}$ C。混合酯样品是将8种构型酯混合均匀后再进行检测,检测时每种构型酯的样品注入量为10~20 μ L。

将混合后的酯和单一构型的酯分别在HPLC-CSP上进行分离和检测,通过比对Chiralpak IC柱中混合酯和单一构型酯的出峰保留时间确定分离效果,如图4所示。

由图4可知,8种构型酯的出峰顺序依次为L-薄荷醇色氨酸酯、L-新薄荷醇色氨酸酯、D-新异薄荷醇色氨酸酯、D-新薄荷醇色氨酸酯、L-新异薄荷醇色氨酸酯、D-薄荷醇色氨酸酯、L-异薄荷醇色氨酸酯和D-异薄荷醇色氨酸酯,每个色谱峰的分度度 R (resolution)分别为1.556、1.391、0.898、1.143、1.608。但D-新异薄荷醇色氨酸酯、D-新薄荷醇色氨酸酯、D-薄荷醇色氨酸酯以及L-异薄荷醇色氨酸酯这4种混合物之间无法有效完全地完全分离开。

本文利用Chiralpak IA柱分别对混合酯和8种单一构型酯进行分离并比对出峰时间,如图5所示。



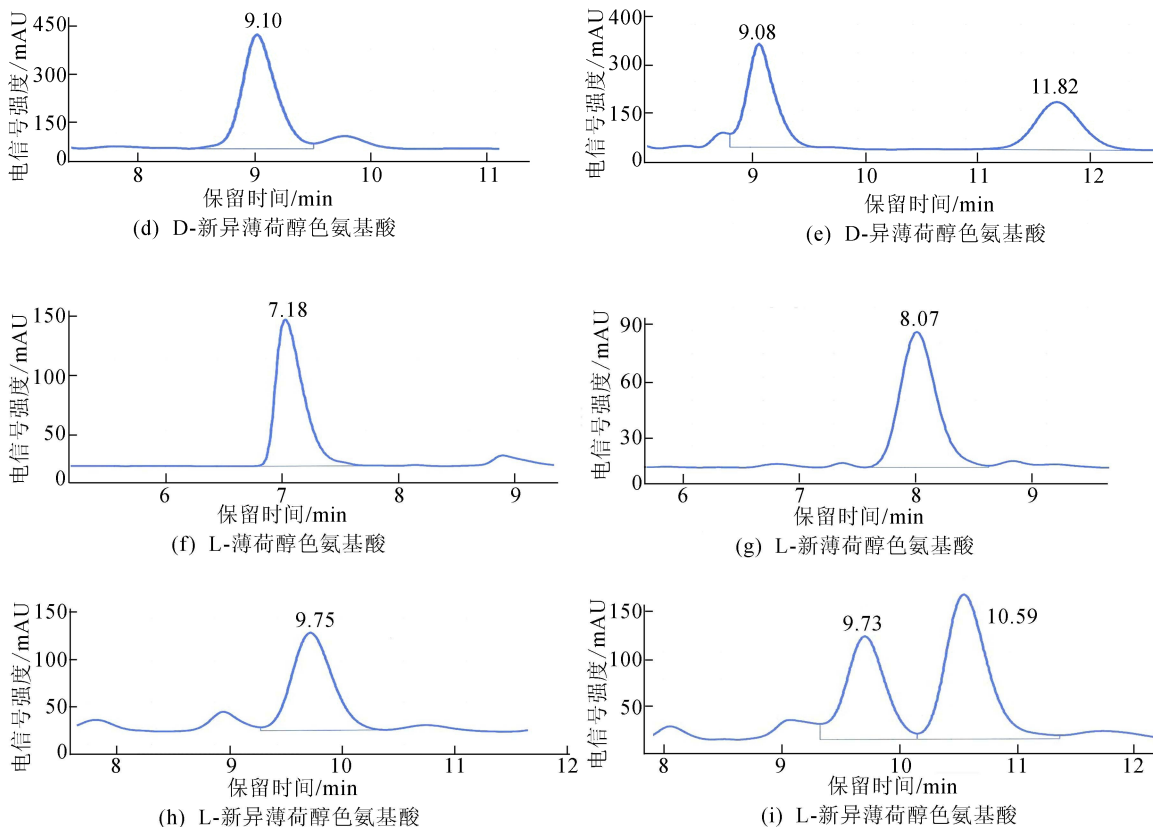
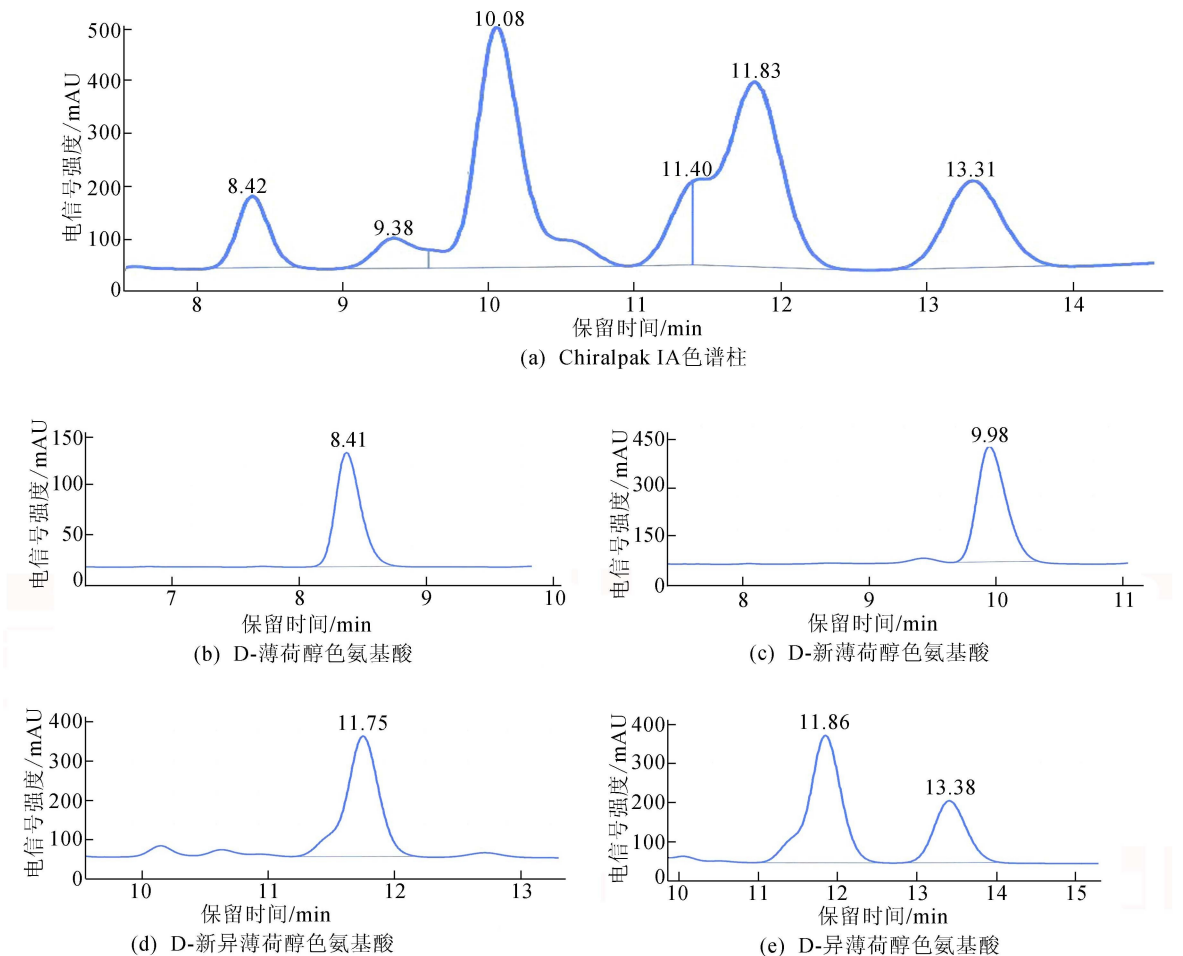


图 4 利用 Chiralpak IC 柱分离 8 种混合酯和检测单一构型的酯



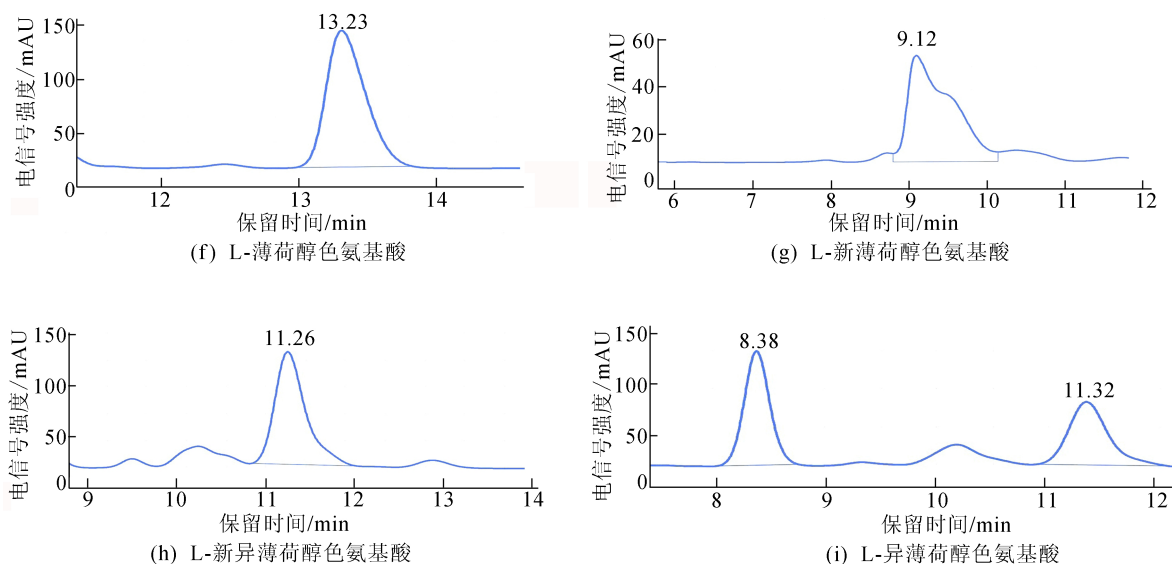


图 5 利用 Chiralpak IA 柱分离 8 种混合酯和检测单一构型的酯

从图 5 可以看出:峰顺序依次为 L-异薄荷醇色氨酸酯、D-薄荷醇色氨酸酯、L-新薄荷醇色氨酸酯、D-新薄荷醇色氨酸酯、L-新异薄荷醇色氨酸酯、D-新异薄荷醇色氨酸酯、L-薄荷醇色氨酸酯、D-异薄荷醇色氨酸酯,且每个色谱峰的分离度 R 分别为 1.481、0.936、1.778、0.456、1.521;在液相图谱上显示出了 6 个峰,L-薄荷醇色氨酸酯和 D-异薄荷醇色氨酸酯在液相图谱上以单一峰呈现;在此条件下,D-薄荷醇色氨酸酯和 L-异薄荷醇色氨酸酯同样也不具有较好的分离效果,这可能是由于这两对非对映体仅在薄荷醇六元环五号位甲基位点的构型上存在差异,从而使得手性填充物质纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)与非对映酯的手性位点之间的相互作用力太接近,从而在手性填充柱上无法实现完全分离。

2.2.2 流动相极性和流速的筛选

在筛选了初步的分离条件后,可通过调节流动相的极性大小和流速快慢来达到最佳的分离效果。实际上,流动相决定了分析物和选择剂互动位点的溶剂化程度以及这些位点能否用于分析物与手性固定相之间的分子接触,因此,流动相在对映选择中扮演着重要角色,选择合适的流动相也是高效分离方法获取的重要环节^[21]。此外,流速的变化也能在一定程度上影响上述参数。

本文采用变换流动相极性和流速的方式(由大到小梯度分离;考虑到程序的设定终止时间,筛选时的最小流速为 0.5 mL/min),先后采用了异丙醇与正己烷体积比为 1:9、8:92、7:93、5:95 的流动相组成以及 1.0、0.8、0.5 mL/min 的

流速比较分离效果,根据筛选分析不同流动相组成以及流速的分离效果发现,流动相的极性越小,流动的流速越慢,混合薄荷醇色氨酸酯的分离效果就越好。

在 Chiralpak IA 柱中,当将流动相异丙醇与正己烷体积比 5:95、流速为 0.5 mL/min 时,可以发现液相图谱中的各色谱峰之间具有较好的分离效果;当使用 Chiralpak IC 柱时,流动相异丙醇与正己烷体积比为 1:9、流速为 0.8 mL/min 时,液相图谱中的各色谱峰之间具有较好的分离效果。

3 结 论

本文研究了经过手性氨基酸衍生化后的薄荷醇在 HPLC-CSP 上的分离效果,并通过使用不同的手性填充柱、改变流动相的组成和流速来改善分离效果。使用 Chiralpak IA 柱分离时,流动相异丙醇与正己烷体积比 5:95、流速为 0.5 mL/min 时,可以取得较好的分离效果;当使用 Chiralpak IC 柱时,流动相异丙醇与正己烷体积比为 1:9、流速为 0.8 mL/min 时可达较好的分离效果。基于本实验的结果分析,在接下来工作中可通过改变手性衍生试剂进一步实现完全分离薄荷醇异构体的目标。

[参 考 文 献]

- [1] GREEN B G. The sensory effects of l-menthol on human skin[J]. Somatosensory & Motor Research, 1992, 9(3): 235-244.

- [2] KARAPINAR M, AKTUS E. Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1987, 4(2): 161-166.
- [3] YOSIPOVITCH G, SZOLAR C, HUI X Y, et al. Effect of topically applied menthol on thermal, pain and itch sensations and biophysical properties of the skin[J]. *Archives of Dermatological Research*, 1996, 288(5): 245-248.
- [4] BLASER H U, STUDER M. Critical issues for using enantioselective catalysis for fine chemicals production [J]. *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry*, 1999, 11(5/6): 459-464.
- [5] LEE S E, LEE B H, CHOI W S, et al. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L)[J]. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 2001, 57(6): 548-553.
- [6] SIDNEY S, TEKAWA I, FRIEDMAN G D. Mentholated cigarette use among multiphasic examinees, 1979-86[J]. *American Journal of Public Health*, 1989, 79(10): 1415-1416.
- [7] SOOTTITANTAWAT A, TAKAYAMA K, OKAMURA K, et al. Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2005, 6(2): 163-170.
- [8] ZHAO L, FANG L, XU Y, et al. Effect of O-acylmenthol on transdermal delivery of drugs with different lipophilicity[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, 352(1/2): 92-103.
- [9] TITOVA Y, FEDOROVA O, RUSINOV G, et al. Effect of nanosized TiO₂-SiO₂ covalently modified by chiral molecules on the asymmetric Biginelli reaction[J]. *Catalysis Today*, 2015, 241: 270-274.
- [10] MILONE C, GANGEMI C, NERI G, et al. Selective one step synthesis of (-) menthol from (+) citronellal on Ru supported on modified SiO₂ [J]. *Applied Catalysis A: General*, 2000, 199(2): 239-244.
- [11] RAVI P, DIVAKAR S. Stereoselective hydrogenation of thymol over Rh/alumina in the presence of β;-cyclodextrin and its derivatives[J]. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2001, 39(1): 27-33.
- [12] MURUGESAN K, SENTHAMARAI T, ALSHAMMARI A S, et al. Cobalt-nanoparticles catalyzed efficient and selective hydrogenation of aromatic hydrocarbons[J]. *ACS Catalysis*, 2019, 9(9): 8581-8591.
- [13] HATTORI T, IDA T, TSUBONE A, et al. Facile arene hydrogenation under flow conditions catalyzed by rhodium or ruthenium on carbon[J]. *European Journal of Organic Chemistry*, 2015, 2015(11): 2492-2497.
- [14] MAEGAWA T, AKASHI A, YAGUCHI K, et al. Efficient and practical arene hydrogenation by heterogeneous catalysts under mild conditions [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2009, 15(28): 6953-6963.
- [15] KUMAR A P, JIN D, LEE Y I. Recent development on spectroscopic methods for chiral analysis of enantiomeric compounds [J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2009, 44(4): 267-316.
- [16] CHEN D M, FU Q, LI N, et al. Enantiomeric separation of naproxen by high performance liquid chromatography using CHIRALCEL OD as stationary phase [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2007, 35(1): 75-78.
- [17] OKAMOTO Y, IKAI T, SHEN J. Controlled immobilization of polysaccharide derivatives for efficient chiral separation[J]. *Israel Journal of Chemistry*, 2011, 51(10): 1096-1106.
- [18] CHEN X, YAMAMOTO C, OKAMOTO Y. Polysaccharide derivatives as useful chiral stationary phases in high-performance liquid chromatography[J]. *Pure and Applied Chemistry*, 2007, 79(9): 1561-1573.
- [19] TAYLOR D R, MAHER K. Chiral separations by high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatographic Science*, 1992, 30(3): 67-85.
- [20] TANG M, ZHANG J, ZHUANG S, et al. Development of chiral stationary phases for high-performance liquid chromatographic separation [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2012, 39: 180-194.
- [21] OKAMOTO Y, IKAI T. Chiral HPLC for efficient resolution of enantiomers[J]. *Chemical Society Reviews*, 2008, 37(12): 2593-2608.
- [22] GASPARRINI F, MISITI D, VILLANI C. High-performance liquid chromatography chiral stationary phases based on low-molecular-mass selectors [J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 906(1/2): 35-50.
- [23] MAIER N M, FRANCO P, LINDNER W. Separation of enantiomers; needs, challenges, perspectives[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 906(1/2): 3-33.
- [24] TOOGOOD H S, CHEALLAIGH A N, TAIT S, et al. Enzymatic menthol production: one-pot approach using engineered *Escherichia coli* [J]. *ACS Synthetic Biology*, 2015, 4(10): 1112-1123.
- [25] KATO M, FUKUSHIMA T, SHIMBA N, et al. A study of chiral recognition for NBD-derivatives on a Pirkle-type chiral stationary phase [J]. *Biomedical Chromatography*, 2001, 15(4): 227-234.

(责任编辑 闫杏丽)