

Untersuchungen zur Maillard-Reaktion* **

XVIII. Isolierung N-haltiger farbiger Verbindungen

Franz Ledl¹, Ulrich Krönig¹, Theodor Severin¹ und Hermann Lotter²

¹ Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, Sophienstr. 10, D-8000 München 2, Bundesrepublik Deutschland

² Institut für Pharmazeutische Biologie, Karlstr. 29, D-8000-München 2

Investigations Relating to Maillard-Reaction XVIII. Isolation of N-Containing Coloured Products

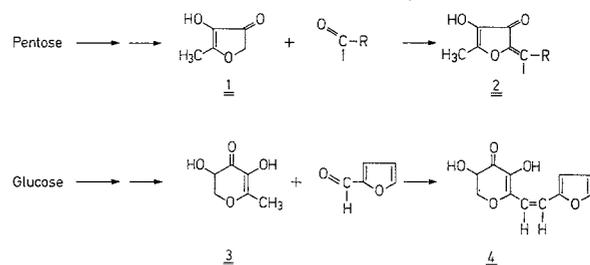
Summary. From a glucose methylammonium acetate browning mixture the coloured compounds (6) and (8) were isolated. The structures (9a) and (9b) of two further yellow substances with the elemental compositions $C_{11}H_{12}N_2O_2$ and $C_{12}H_{14}N_2O_2$ are not completely defined. By heating glucose with piperidinium acetate the orange condensation product (11) is formed among other compounds. By analogy substance (10) can be obtained from pentoses and diethylamine.

Zusammenfassung. Aus Glucose/Methylammoniumacetat-Bräunungsgemischen konnten die farbigen Verbindungen (6) und (8) isoliert werden. Für zwei weitere kristalline erhaltene Substanzen der Zusammensetzung $C_{11}H_{12}N_2O_2$ und $C_{12}H_{14}N_2O_2$ sind die Strukturen (9a) und (9b) noch nicht endgültig gesichert. Glucose bildet beim Erhitzen mit Piperidiniumacetat u. a. das tiefgelbe Kondensationsprodukt (11). Analog erhält man aus Pentosen mit Diethylamin die Verbindung (10).

Bei der Maillard-Reaktion werden aus Zuckern durch Anlagerung einesamins, Abspaltung von Wasser und eventuell Wiederabspaltung desamins Substanzen gebildet, die sich zu farbigen Verbindungen umsetzen, dabei kondensieren Aldehyde oder Ketone mit methylenaktiven Verbindungen oder mit leicht substituierbaren Heterocyclen. Aus dem Zucker entsteht sowohl die als Elektrophil reagierende Carbonylverbindung als auch

die als Nucleophil fungierende CH-acide Komponente. Dies Prinzip sei an zwei Beispielen verdeutlicht.

Nach Umsetzung von Pentosen mit Salzen primärer Amine isolierten wir Verbindungen der Struktur (2) [1]. Um bei Hexosen die wesentlichen methylenaktiven Komponenten zu ermitteln, haben wir eine Amadoriverbindung aus Glucose und Piperidin unter Zusatz von Furfurol erhitzt und erhielten so neben anderen farbigen Produkten eine Substanz der Struktur (4) [2].



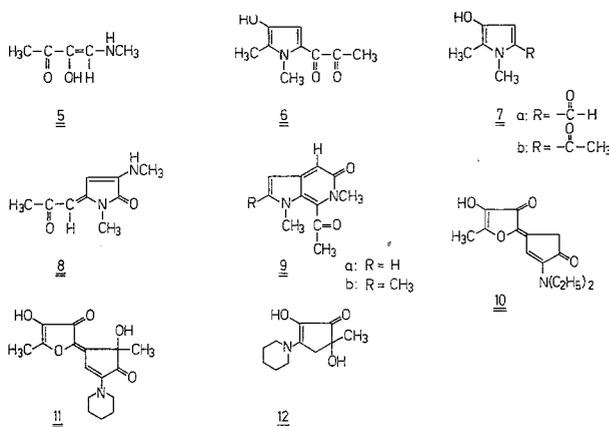
Bei der Umsetzung von Hexosen haben wir zur Vereinfachung der Aufarbeitung zunächst Glycin als Aminkomponente verwendet, da dann N-haltige Produkte leicht abtrennbar sind. Hierdurch wird die Reindarstellung nicht N-haltiger Verbindungen erleichtert. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind einer gesonderten Publikation vorbehalten. In Modellreaktionen mit einfachen primären und sekundären Aminen konnten wir auch einige N-haltige farbige Produkte isolieren. Hierüber werden wir im folgenden berichten.

Erhitzt man Glucose mit Methylammoniumacetat in wässriger Lösung auf etwa 70–80 °C, so ist ein Teil der gebildeten farbigen Produkte mit organischen Lösungsmitteln extrahierbar. Durch chromatographische Trennung des lipophilen Anteils an Kieselgel lassen sich einige farbige Verbindungen (6, 8, 9a und 9b) ohne allzu großen Aufwand in reiner kristalliner Form isolieren. Bereits früher haben wir über die Untersuchung eines derartigen Reaktionsgemisches berichtet,

* XVII. Mitteilung: Ledl F, Fritsch G, Hiebl J, Severin Th (1983) Z Lebensm Unters Forsch 176:294

** Dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit

u. a. konnten wir das C₄-Aminoreduktion (5) [3] sowie das Dihydropyranon (3) [4] abtrennen.



Diskussion

Eine der isolierten farbigen Verbindungen (6) ist ein Hydroxypyrrrol mit einer exocyclischen α -Dicarbonyl-Gruppierung. Die Struktur folgt aus den Spektren (Einzelheiten im experimentellen Teil) sowie aus einer unabhängigen Synthese [5]. Die Verbindung (6) enthält acht C-Atome in unverzweigter Folge. Dies zeigt, daß unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion C,C-Spaltungen und Rekombinationen erfolgen. Zwei ähnliche, jedoch im sichtbaren Bereich noch nicht absorbierende Verbindungen, nämlich 1,2-Dimethyl-5-formyl-3-hydroxy-pyrrol (7a) sowie das analoge Acetylderivat (7b) lassen sich im gleichen Reaktionsansatz nachweisen [6]. (7a) entsteht bei der Umsetzung von Methylglyoxal mit Methylammoniumacetat in relativ großer Menge [7]. Methylglyoxal wiederum ist ein bekanntes Produkt der thermischen Kohlenhydratzerersetzung. Es ist in beträchtlicher Menge im Rauch enthalten und wird für die Bräunung von Fischfilet beim Räuchern verantwortlich gemacht [8].

In relativ großer Menge findet man unter den farbigen lipophilen Verbindungen das ungesättigte Lactam (8). Die Struktur konnte auf Grund der Spektren allein nicht eindeutig festgelegt werden. Sie wurde daher durch eine Röntgenstrukturanalyse ermittelt (Einzelheiten siehe exp. Teil).

Als weitere farbige Verbindungen mit N-Atomen konnten zwei Substanzen der Zusammensetzung C₁₁H₁₂N₂O₂ und C₁₂H₁₄N₂O₂ in reiner kristalliner Form gewonnen werden. Die Strukturen sind jedoch noch nicht gesichert. Möglicherweise liegen Heterocyclen vor, die kondensierte Pyrrol- und Pyridonringe enthalten. Die Spektren sind in Übereinstimmung mit den Strukturen (9a) und (9b).

Erhitzt man Xylose mit Diethylammoniumacetat in Ethanol, so ist aus der Reaktionsmischung eine Sub-

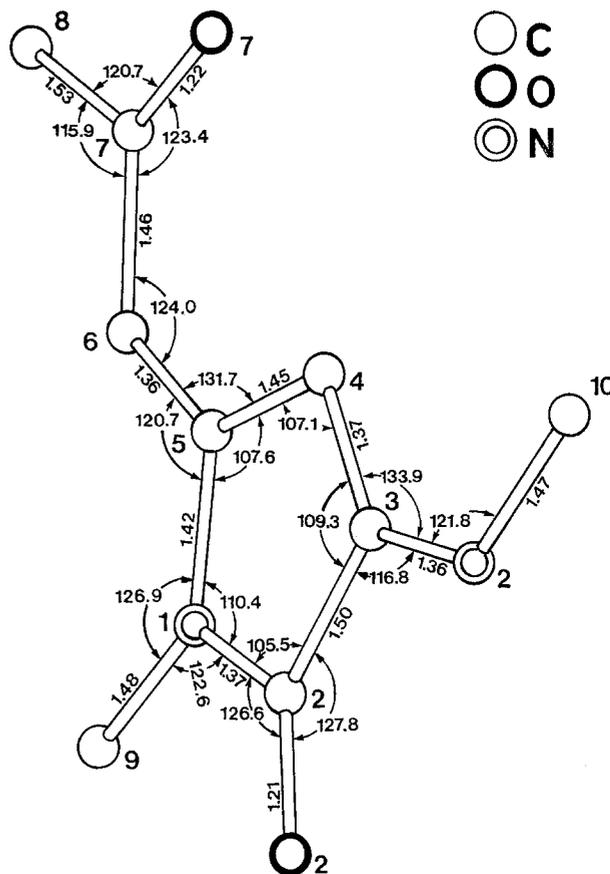


Abb. 3. Molekülstruktur der Verbindung (8) in der Projektion auf die kristallographische XY-Ebene mit Abständen und Winkeln. – Standardabweichungen der Abstände $<0,01$ Å, der Winkel $<0,6^\circ$

stanz der Struktur (10) verhältnismäßig leicht isolierbar. Auch hier führte erst eine Röntgenstrukturermittlung zu einer eindeutigen Aussage und damit gesicherten Formel.

Unter ähnlichen Bedingungen bildet sich aus Glucose und Piperidiniumacetat eine Verbindung der Zusammensetzung C₁₆N₁₉NO₅. Die Struktur (11) folgern wir aus der Tatsache, daß das aus Glucose erhaltene Produkt ähnliche Spektren aufweist wie die aus Pentosen erhaltene Verbindung (10).

Bei Bräunungsreaktionen von Zuckern entsteht eine Vielzahl von Verbindungen. Es würde den Überblick erleichtern, wenn man einige allgemeine Reaktionswege aufzeigen könnte, in die sich die verschiedenen Einzelverbindungen einordnen ließen. Vorläufig ist uns das für das Lactam (8) noch nicht möglich. Die 5-Acyl-3-hydroxypyrrrole (6) sowie (7a) und (7b) könnten sich durch Retroaldolspaltung des Zuckers und Rekombination der Bruchstücke des primären Amins bilden.

Als Beispiel eines N-haltigen Retroaldolbruchstückes kann auch Verbindung (5) angesehen werden. Die

flexe vermessen, von denen 79 nicht beobachtet waren ($I < 2\sigma(I)$). Lp-Korrekturen wurden in der üblichen Weise angebracht und schließlich die Meßdaten auf Absorption korrigiert.

Die Struktur wurde mit direkten Methoden des Programmsystems SHELXTL [11] gelöst. Zur Phasenbestimmung wurden die 194 höchsten E-Werte verwendet und damit 1024 Phasensätze berechnet. Eine E-Fouriersynthese mit dem besten Phasenansatz (nach NQEST-Kriterien) zeigte bereits alle Atome. Anschließende Verfeinerungszyklen (ohne Wasserstoffatome) konvergierten anisotrop bei 9,2% [12].

Die Struktur ist eben mit allen Abständen der Atome von der „besten Ebene“ kleiner 0,07 Å. Die Anwesenheit von Doppelbindung zeigt deutlich der kurze Abstand von 1,37 Å zwischen C3 und C4 sowie 1,36 Å zwischen C5–C6. Eine gegenseitige Beeinflussung der π -Elektronensysteme der vinylogenen Säureamide erklären die Verkürzung der Bindungen N1–C2 (1,37 Å), C4–C5 (1,45 Å) und schließlich C6–C7 (1,46 Å). Auch die Planarität wird durch die Sp^2 -Hybridisierung des ganzen Systems erklärt.

Isolierung von Substanz (11)

40 g Glucose und 17 g Piperidin in 150 ml Ethanol unter Rückfluß 1,5 Std erhitzen, nach Zugabe von 12 g Eisessig weitere 22 Std erwärmen. Nach Abkühlen und Entfernen des Lösungsmittels das erhaltene Öl vom ausgefallenen Piperidinoxoseredukton (12) abtrennen, mit Wasser aufnehmen und 3 Std mit Methylenchlorid extrahieren. Aus dem Extrakt bei ca. 0,1 Torr und bis 100 °C steigender Temperatur Verbindung (3) abdestillieren, den Rückstand mit wenig Methanol aufnehmen und über präp. Kieselgelplatte mit dem Fließmittelgemisch Essigester/Toluol (3+1) auftrennen. Die orange Zone (R_f -Wert 0,4) mit Essigester eluieren. Nach einigen Tagen im Kühlschrank kristallisiert Substanz (11) in Form von orangen Platten aus. Ausbeute: 0,05%

(11) Smp. 192 °C (Zers.). – IR (KBr): 1725, 1630, 1590, 1510, 1440, 1170 cm^{-1} . – 1H -NMR ($CDCl_3$): ppm 1,71 (s,3H) 1,76 (m,6H) 2,37 (s,3H) 3,81 (m,4H) 6,68 (s,1H). – MS: 305 (26, M^+) 277 (19) 234 (21) 219 (15) 206 (19) 194 (18) 180 (20) 149 (21) 112 (19) 84 (40) 69 (30) 55 (32) 43 (100). – UV (Methanol): λ max 451 nm, $\log \epsilon = 4,44$. – (Methanol+HCl): λ max 478 nm, $\log \epsilon = 4,62$.

Isolierung von Substanz (10)

10 g Xylose und 5 g Diethylamin in 60 ml Methanol unter Rückfluß erhitzen, nach 3 Std 12 g Eisessig zutropfen und weitere 2,5 Std erwärmen. Nach dem Abkühlen den Alkohol weitgehend entfernen, den Rückstand mit 20 ml 2-n-Natronlauge aufnehmen und 3 Std mit

Ether extrahieren. Die organische Phase über eine Kieselgelsäule chromatographieren (Elutionsmittel Ether) und die orangefarbene schnell laufende Zone sammeln. Nach Entzug des Elutionsmittels kristallisiert aus dieser Fraktion die Hauptmenge an Verbindung (1). Das Filtrat bei ca. 0,1 Torr und bis 80 °C steigender Temperatur destillieren (Substanz (1) wird auf diese Weise weitgehend entfernt), den Rückstand mit wenig Methanol aufnehmen und über präp. Kieselgelplatten mit dem Fließmittelgemisch Essigester/Toluol (2+1) auftrennen. Die orange Zone mit R_f -Wert 0,5 mit Essigester eluieren. Nach mehreren Tagen im Kühlschrank kristallisiert Verbindung (10) in Form von orangen Tafel aus. Ausbeute 0,1% (10) Smp 190 °C (Zers.). – IR (KBr): 1725, 1675, 1615, 1500, 1450, 1190, 1035 cm^{-1} . – 1H -NMR ($CDCl_3$): ppm 1,27 (t,3H, $J=7$ Hz) 2,31 (s,3H) 3,52 (s,2H) 3,57 (q,2H, $J=7$ Hz) 6,60 (s,1H). – MS: 263 (73, M^+) 248 (27) 234 (42) 192 (50) 168 (29) 164 (36) 77 (57) 72 (42) 66 (52) 55 (58) 43 (100). – UV (Methanol): λ max 448 nm, $\log \epsilon = 4,33$. – (Methanol+HCl): λ max 480 nm, $\log \epsilon = 4,49$.

Röntgenstrukturanalyse von Verbindung (10)

Siehe Text unter Abb. 4.

Literatur

- Ledl F, Severin Th (1978) Z Lebensm Unters Forsch 167:410
- Ledl F, Severin Th (1982) Z Lebensm Unters Forsch 175:262
- Ledl F, Severin Th (1979) Z Lebensm Unters Forsch 169:173
- Severin Th, Seilmeier W (1968) Z Lebensm Unters Forsch 160:367
- Manninger G, Severin Th (1976) Z Lebensm Unters Forsch 161:45
- Krönig U Diss (1974) München
- Wieland Th, Severin Th (1973) Z Lebensm Unters Forsch 153:201
- Ruiter A (1970) Lebensm-Wiss Technol 3:98
- Weygand F, Simon H, Bitterlich W, Hodge JE, Fischer BE (1959) Tetrahedron 6:123
- Euler HV, Eistert B (1957) Chemie und Biochemie der Redukto- und Reduktonate. Enke, Stuttgart
- Shelxtl, Ein Programm zur Kristallstrukturbestimmung, Release 2.4, G. M. Sheldrick, Universität Göttingen
- Die Atomkoordinaten sowie Abstände und Winkel mit Standardabweichungen sind am Cambridge Crystallographic Data Center hinterlegt

Eingegangen am 9. Mai 1983