

Bildung eines Pyridon-Derivates aus Maltose und Lactose

XII. Untersuchungen zur Maillard-Reaktion

Th. Severin und A. Loidl

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

Formation of Pyridone Derivates from Maltose and Lactose

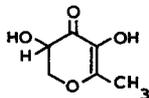
XII. Investigations on the Maillard-Reaction

Summary. Maltose and lactose react with methylammoniumacetate in a hot aqueous solution giving a dark brown mixture of products. 1,2-dimethyl-3-hydroxy-4-pyridone (5) can be isolated from the volatile compounds. Maltol and Isomaltol can be converted into the pyridone 5 with methylammoniumacetate. 1-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-4-pyridone is obtained from isomaltol and glycine.

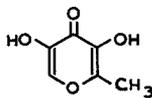
Zusammenfassung. Maltose und Lactose reagieren mit Methylammoniumacetat in heißer, wäßriger Lösung rasch unter Bräunung. Aus dem Gemisch der flüchtigen Produkte ist 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) (5) in verhältnismäßig großer Menge isolierbar. Auch Maltol (7) und Isomaltol (8) lassen sich mit Methylammoniumacetat zu dem Pyridon 5 umsetzen. Aus Isomaltol und Glycin erhält man 1-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4) (9).

Einleitung

Es ist lange bekannt, daß bei der Karamellisierung von Kohlenhydraten und auch in stark erhitzten Lebensmitteln, wie Kaffee oder Brotkruste Maltol (7) gebildet werden kann [2]. Erst in neuerer Zeit wurden zwei weitere Zuckerumwandlungsprodukte mit Pyronstruktur aufgefunden. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-pyron-(4) (1) entsteht insbesondere unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion, d.h. bei Umsetzungen reduzierender Mono- oder Disaccharide mit einfachen Aminen, Aminosäuren oder Proteinen [3]. Diese Verbindung wurde in verschiedenen Lebensmitteln nachgewiesen [1].



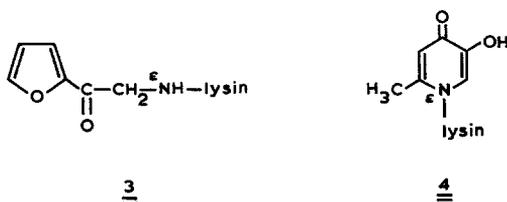
1



2

3,5-Dihydroxy-6-methyl-pyron-(4) (2) ist durch Oxydation von 1 darstellbar und tritt neben 1 auf [4]. Da Pyrone mit prim. Aminen zu Pyridonen reagieren können, sollte man erwarten, daß auch derartige N-haltige Sechsring-Systeme als Zuckerabbauprodukte bzw. in Lebensmitteln auftreten.

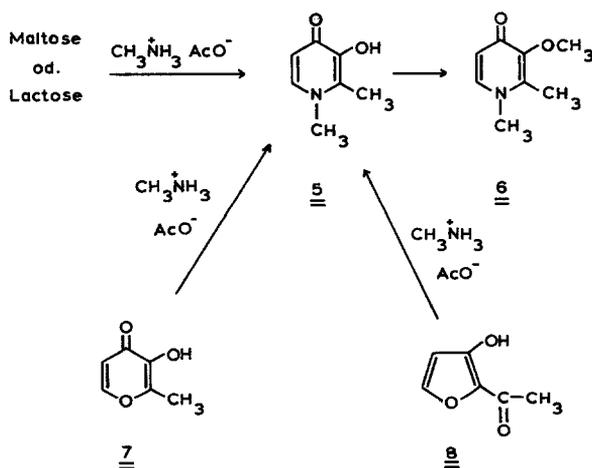
Glucose bildet mit Aminosäuren verhältnismäßig leicht N-substituierte Glycosylamine und weiter in einer Amadori-Umlagerung die entsprechenden N-substituierten 1-Amino-1-desoxy-fructosen [5]. Im Protein ist es die Aminogruppe der Lysin-Seitenkette, die sich so mit reduzierenden Zuckern umsetzt. Das aus Glucose und Lysin erhaltliche ϵ -N-(1-Desoxy-fructosyl)-L-lysin wird beim Erhitzen mit Salzsäure teilweise zu ϵ -N-(2-Furoylmethyl)-L-lysin (3, Furosin) sowie ϵ -N-(1,4-Dihydro-3-hydroxy-6-methyl-4-oxo-1-pyridyl)-L-lysin (4, Pyridosin) umgesetzt [6].



Ursprünglich wurden die Aminosäurederivate 3 und 4 in Säurehydrolysaten von erhitzten Milchpulvern aufgefunden. Die analytische Bedeutung von 3 und 4 liegt darin, daß sich über diese Verbindungen eine Hitzebehandlung von Lebensmitteln nachweisen läßt [7]. Im Zusammenhang mit den von uns ausgeführten Untersuchungen ist von Interesse, daß Furosin und Pyridosin erst durch Einwirkung starker Säure gebildet werden, also nicht ursprünglich im Lebensmittel vorliegen.

Ergebnisse

Wir haben Maltose mit Methylammoniumacetat umgesetzt und aus den Produkten u. a. 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) (5) isoliert. Im einzelnen wurde das Disaccharid mit dem Amin und Essigsäure in wäßriger Lösung 3 Std auf 100° C erhitzt, der lipophile Anteil anschließend mit Methylenechlorid extrahiert und einer Vakuumdestillation unterworfen; dabei schied sich 5 in der Vorlage in kristalliner Form ab.



Die Struktur ergibt sich aus der Elementaranalyse sowie aus den Spektren. Im NMR-Spektrum findet man für die Methylgruppen je ein Singulett bei $\delta=2,43$ ppm bzw. 3,76 ppm; die ringständigen Protonen ergeben je ein Dublett bei $\delta=6,39$ ppm und 7,60 ppm ($J=7,2$ Hz). Die Carbonylgruppe erscheint im IR-Spektrum bei 1630 cm^{-1} . Zur Bestätigung der Struktur wurde zu 6 methyliert und das gleiche Produkt aus Maltolmethyläther mit Methylamin dargestellt. Die auf beiden Wegen erhaltenen Verbindungen erwiesen sich als identisch.

Es stellt sich die Frage, ob die Bildung von 5 aus Maltose über Maltol (7) als Zwischenstufe verläuft. Besonders eingehende Untersuchungen über Reaktionen einiger Pyron-Derivate mit verschiedenen Aminen wurden von Heyns u. Mitarb. ausgeführt [8]. Sie fanden, daß Kojisäure mit Äthanolamin erhitzt N-(2-Hydroxy-äthyl)-5-hydroxy-2-hydroxymethyl-pyridon-(4) in 16proz. Ausbeute ergibt. Besser reagiert der Methyläther der Kojisäure, der auch mit Glycin, allerdings nur in Gegenwart äquivalenter Mengen einer Base (bei 120°C in 18proz. Ausbeute) zum entsprechenden Pyridon umgesetzt werden konnte. Von einer japanischen Arbeitsgruppe wurden 3-D-Glucosyloxy-2-methyl-4-pyridone aus natürlichen Maltolglycosiden durch Umsetzung mit primären Aminen (also im Alkalischen) dargestellt und weiter durch Säurehydrolyse in die Aglycone umgewandelt [9].

Wir haben Maltol (7) mit Methylamin in basischer, neutraler und schwach saurer, wäßriger Lösung auf Siedetemperatur erhitzt und konnten in allen Fällen das Pyridon 5 in guter Ausbeute erhalten. Diese Versuche beweisen allerdings nicht, daß bei der Reaktion von Maltose mit Methylammoniumacetat zu 5 Maltol als Zwischenstufe anzusehen ist. Unter den Produkten wurden nur geringe Mengen Maltol nachgewiesen.

Auch Lactose ergibt mit Methylammoniumacetat beim Kochen in wäßriger Lösung ein Gemisch, aus dem das Pyridon 5 isolierbar ist. Hodge u. Mitarb. erhielten aus Lactose durch Umsetzung mit Piperidin über Galactosyl-Isomaltol in verhältnismäßig großer Ausbeute Isomaltol (8) [10]. Dieses Furanderivat wurde ursprünglich aus mit Milch gebackenem Brot isoliert [11], in seiner Struktur aber erst viel später aufgeklärt [12]. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde 2-Acetyl-3-methoxy-furan mit Ammoniak umgesetzt und dabei 2-Acetyl-3-methoxy-pyrrol sowie 3-Hydroxy-4-methoxy-2-methyl-pyridin isoliert. Wir erhielten aus 8 mit Methylammoniumacetat nur das Pyridon 5. Bemerkenswert ist, daß 5 auch unter neutralen Bedingungen gebildet wird. Analog reagiert Isomaltol mit Glycin zum Pyridon 9. Durch Methylierung ist aus 9 der Ester 10 darstellbar. Erhitzt man 9 im Vakuum auf $140\text{--}150^\circ\text{C}$, so decarboxyliert diese Carbonsäure und 5 sublimiert in die Vorlage.

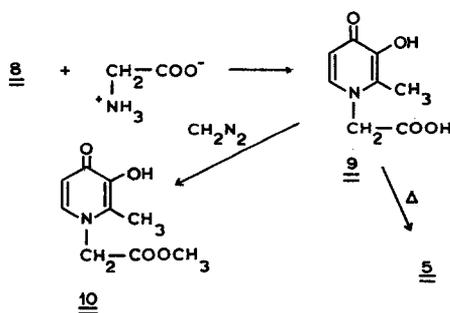


Tabelle 1. Flüchtige Verbindungen der Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat

1) Acetoin	11) 5-Methyl-2-furfurylalkohol ^a
2) Monohydroxyaceton	12) 2,5-Dihydro-furan-2-on ^b
3) 2-Furfuraldehyd	13) 1,5-Dimethyl-2-formylpyrrol ^b
4) 2-Furfurylformiat	14) Benzylalkohol ^b
5) 2-Acetylfuran	15) Maltol
6) 2-Furfurylacetat	16) 2-(2-Hydroxyacetyl)-1-methylpyrrol ^{a,b}
7) Di-(furyl-2)-methan	17) 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-pyron-(4) ^{a,b}
8) 1-Methyl-2-pyrrolcarbaldehyd ^{a,b}	18) 3-Hydroxybutyrolacton
9) Furfurylalkohol ^{a,b}	19) 5-Hydroxymethyl-1-methyl-2-formylpyrrol ^{a,b}
10) 1-Methyl-2-formylpyrrol ^{a,b}	

^a Bereits bei der Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat nachgewiesen [13].

^b Hauptprodukte.

Bei der Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat entstehen zahlreiche weitere Produkte. Das Ergebnis einer GC-MS-Analyse des mit Methylenchlorid extrahierbaren und im Vakuum destillierbaren Anteils ist in Tab. 1 zusammengefaßt. Viele der hier aufgeführten Verbindungen wurden schon früher als Produkte der Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat aufgefunden [13]. Eine weitere Überprüfung zeigte, daß auch als Glucose das Pyridon $\underline{5}$ erhalten wird; verglichen mit den Disacchariden Maltose und Lactose allerdings in geringer Menge.

Experimenteller Teil

NMR-Spektren: Innerer Standard Tetramethylsilan für CDCl_3 , CD_3OD und $\text{C}_3\text{D}_7\text{NO}$; Massenspektren: VARIAN CH 7-Gerät bei 70 eV und 160° C Ionenquellentemperatur.

Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat

a) Isolierung von 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) ($\underline{5}$): 36 g Maltose, 6 g Eisessig und 28 g Methylaminlösung (33%) in 100 ml Wasser 3 Std unter Rückfluß zum Sieden erhitzen. Nach dem Erkalten 8—10 Std im Perforator mit Methylenchlorid extrahieren. Die braune, organische Phase über Na_2SO_4 trocknen und i. Vak. eindampfen. Durch erneute Zugabe von wenig Methylenchlorid scheidet sich $\underline{5}$ kristallin ab. Zur Gewinnung kann man auch den gesamten Extraktionsrückstand einer Vakuumdestillation (0,1 Torr) unterwerfen. Bei 150—170° C scheidet sich $\underline{5}$ in kristalliner Form in der luftgekühlten Vorlage ab. Man reinigt $\underline{5}$ durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Dimethylformamid.

Farblose Kristalle, Smp. 260—265° C (Zers.), Ausb. 1,6% bez. auf die eingesetzte Zuckermenge. — $\underline{5}$ entsteht ebenso in neutraler Lösung.

$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2$ (139,1) Ber. C 60,42 H 6,52 N 10,07/Gef. C 60,13 H 6,30 N 10,25. — MS: m/e 139 (97%, M^+), 138 (30), 124 (20), 111 (42), 110 (100), 96 (18), 94 (25), 82 (19), 67 (21), 56 (35), 55 (37), 42 (50), 41 (30), 39 (20). — IR (KBr): 3160, 1630 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ = 2,43 ppm (s), 3,76 (s), 6,39 (d, J = 7,2 Hz), 7,60 (d, J = 7,2 Hz). — UV (H_2O): λ_{max} = 215 ($\log \epsilon$ = 4,2), 280 nm ($\log \epsilon$ = 4,1).

b) GC/MS-Analyse der flüchtigen Produkte: Bei der Isolierung von $\underline{5}$ ein Teil des mit Methylenchlorids erhaltenen Extraktes einer Vakuumdestillation unterwerfen (0,1 Torr, 150—170° C). Die flüchtigen Anteile in einer luftgekühlten, einer mit Eis gekühlten und in einer mit CO_2 /Methanol gekühlten Falle auffangen. Die einzelnen Destillate getrennt einer GC/MS-Analyse unterwerfen. Gaschromatographie: Säule: 5% FFAP auf Chromosorb W-AW-DMCS, 2,5 m Länge, 1/8", 60/80 mesh. — Säulentemp.: 70° C, mit 6°/min auf 240° C, 10 min bei 240° C. Detektor: (FID) 250° C, Injektor: 250° C. — Massenspektrometrie: Elektronenvolt: 70, Ionenquellentemp.: 230° C.

Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat

Die Isolierung von 5 erfolgt wie für Maltose beschrieben. Ausb. 1,4%.

Bildung von 5 aus Maltol

2,5 g Maltol, 2,8 g Methylaminlösung (33%) und 0,6 g Eisessig in 50 ml Wasser 4—5 Std unter Rückfluß zum Sieden erhitzen. Die erkaltete Lösung 8—10 Std im Perforator mit Methylenchlorid extrahieren. Die organische Phase mit Na_2SO_4 trocknen und i. Vak. eindampfen. Den Rückstand chromatographisch (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254, MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: Benzol/Methanol (1+1); R_f -Wert 0,25—0,50) reinigen und i. Vak. sublimieren (0,1 Torr, 150—170° C). Ausb. 55%.

Die gleiche Umsetzung ist auch im Neutralen und schwach Sauren durchführbar, wobei man 5 mit etwas geringerer Ausbeute isolieren kann.

Bildung von 5 aus Isomaltol

2,5 g Isomaltol, 2,8 g Methylaminlösung (33%) und 1,8 g Eisessig (neutral) bzw. 0,6 g Eisessig (alkalisch) in 50 ml Wasser unter Rückfluß 3 Std zum Sieden erhitzen. Die erkaltete, wäßrige Lösung 8—10 Std im Perforator mit Methylenchlorid extrahieren. Die organische Phase mit Na_2SO_4 trocknen. Das Lösungsmittel i. Vak. eindampfen und den Rückstand mehrfach aus heißem Dimethylformamid umkristallisieren. Ausb. 57%.

Darstellung von 1,2-Dimethyl-3-methoxy-pyridon-(4) (6)

1,4 g Maltol-O-methyläther [14] und 2,8 g Methylaminlösung (33%) in 30 ml Wasser 3—4 Std unter Rückfluß zum Sieden erhitzen. Nach dem Erkalten mit Methylenchlorid extrahieren, mit Na_2SO_4 trocknen und die organische Phase i. Vak. eindampfen. Den Rückstand einer chromatographischen Reinigung (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254, MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: Benzol/Methanol (6+4); R_f -Wert 0,5—0,6) unterwerfen und i. Vak. sublimieren (0,1 Torr, 130—140° C). In der luftgekühlten Vorlage scheidet sich ein gelbliches Öl ab, das rasch durchkristallisiert. Smp. 75—76° C (aus Methylenchlorid), Ausb. 50%. Das Kristallwasser läßt sich in der Trockenpistole (90° C, 15 Torr, CaCl_2) entfernen. Die Verbindung schmilzt dann bei 122° C und ist hygroskopisch. $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (171,2) Ber. C 56,13 H 7,65 N 8,18/Gef. C 55,93 H 7,35 N 8,24. — MS: m/e 153 (100% M^+), 124 (60), 122 (68), 110 (60), 94 (53). IR (KBr): 3460, 1630 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 2,36 ppm. (s), 3,63 (s), 3,89 (s), 6,36 (d, J = 7,4 Hz), 7,25 (d, J = 7,4 Hz). — UV (H_2O): λ_{max} = 213 (log ϵ = 4,3), 268 nm (log ϵ = 4,2).

Methylierung von 5

1,4 g 5 in 30 ml Methanol suspendieren. Über einen Zeitraum von etwa 30 min unter Rühren mit 1,2 g Diazomethan versetzen, gelöst in kaltem Äther. Danach i. Vak. eindampfen und den Rückstand, wie bei der Darstellung von 6 beschrieben, reinigen. Das Produkt ist mit 6 identisch. Ausb. 45%. Als weiteres Reaktionsprodukt (R_f = 0,1—0,2) wird ein Pyridiniumbetain gebildet [15].

Bildung von 1-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4) (9)

3,8 g Isomaltol und 2,9 g Glycin-Natriumsalz in 100 ml Wasser 5 Std unter Rückfluß zum Sieden erhitzen. Die erkaltete Lösung mit 3 n-Salzsäure neutralisieren und anschließend 7—8 Std im Perforator mit Methylenchlorid extrahieren. Aus der wäßrigen Phase scheiden sich Kristalle ab, die man abtrennt. Farblose Kristalle, Smp. 260—265° C (Zers., aus Dimethylformamid), Ausb. 29%. — $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_4$ (183,1) Ber. C 52,46 H 4,95 N 7,65/Gef. C 52,18 H 4,72 N 7,57. — MS: m/e 183 (100% M^+), 165 (78), 138 (70), 136 (75), 124 (27), 110 (60), 97 (18), 96 (20), 69 (33), 57 (40), 42 (50). — IR (KBr): 3070, 1640 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_3\text{D}_7\text{NO}$): δ = 2,33 ppm (s), 5,00 (s), 6,29 (d, J = 7,4 Hz), 7,74 (d, J = 7,4 Hz). — UV (H_2O): λ_{max} = 217 (log ϵ = 4,3), 282 nm (log ϵ = 4,2).

Methylierung von 9 zu 1-Carbomethoxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4)

1,0 g 9 in 20 ml Methanol suspendieren. Über einen Zeitraum von mehreren min unter Rühren mit 0,7 g Diazomethan (in Äther) versetzen. Beim Eindampfen der Lösung erhält man Kristalle. Smp. 185° C (aus Acetonitril), Ausb. 85%. MS: m/e 197 (20% M⁺), 165 (10), 138 (13), 69 (25), 58 (30), 55 (20), 43 (100). — IR (KBr): 3180, 1750, 1635 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CD₃OD): δ = 2,29 ppm (s), 3,79 (s), 4,96 (s), 6,41 (d, J = 7,4 Hz), 7,57 (d, J = 7,4 Hz).

Decarboxylierung von 9

0,5 g 9 einer Vakuumdestillation (0,1 Torr, 140—150° C) unterwerfen; in der luftgekühlten Vorlage scheiden sich farblose Kristalle ab, die nach den Spektren mit 5 identisch sind. Ausb. 75%.

Literatur

- XI., Mitteil.: Ledl, F., Schnell, W., Severin, Th.: Z. Lebens. Unters.-Forsch. (im Druck)
- Beitter, H.: Brot Gebäck **17** (7), 132 (1963). Beitter, H.: Ber. Getreidechemiker-Tagung, Detmold 1963, 69. Elderfield, R.: Heterocyclic Compounds, 2. Aufl., Bd. 1, S. 387. New York-London: John Wiley a. Sons Inc. 1959
- Severin, Th., Seilmeier, W.: Z. Lebensm. Unters.-Forsch. **137**, 4 (1968). Mills, F. D., Weisleder, D., Hodge, J. E.: Tetrahedron Lett. **15**, 1243 (1970). Shaw, P. E., Tatum, J. H., Berry, R. E.: Carbohydr. Res. **5**, 266 (1967)
- Shaw, P. E., Tatum, J. H., Berry, R. E.: Carbohydr. Res. **16**, 207 (1971). Schnell, W.: Diss. München (1975)
- Reynolds, T. M.: Advances Food Res. **12**, 1 (1963); **14**, 168 (1965)
- Erbersdobler, H., Zucker, H.: Milchwissenschaft **21**, 564 (1966). Heyns, K., Heukeshoven, J., Brose, K. H.: Angew. Chem. **80**, 627 (1968). Finot, P. A., Viani, R., Bricout, J., Mauron, J.: Experientia **24**, 1097 (1968). Finot, P. A., Viani, R., Bricout, J., Mauron, J.: Experientia **25**, 134 (1969). Erbersdobler, H.: Milchwissenschaft **25**, 280 (1970)
- Literatur unter 6.)
Sulser, H., Büchi, W.: Lebensm.-Wiss. Technol. **2**, 105 (1969)
- Heyns, K., Vogelsang, G.: Chem. Ber. **87**, 1377 (1954)
- Yasue, Masaiti; Kawamura, Norihisa; Sukakibara, Jiusaku; Yakugaku Zasski **90**, 1222 (1970). C.A. **74**, 23102b
- Hodge, J. E., Nelson, E. C.: Cereal Chem. **38**, 207 (1961)
- Backe, A.: Compt. rend. **150**, 540 (1910); **151**, 78 (1910)
- Fisher, B. E., Hodge, J. E.: J. Org. Chem. **29**, 776 (1964)
- Jurch, Jr., G. R., Tatum, J. H.: Carbohydr. Res. **15**, 233 (1970)
- Peratoner, A., Tamburello, A.: Gazz. Chim. Ital. **36** I, 41 (1905)
- Loidl, A.: Geplante Diss. München (1976)

Eingegangen am 7. November 1975