

Backen, Altern, Diabetes: eine kurze Geschichte der Maillard-Reaktion

Michael Hellwig und Thomas Henle*

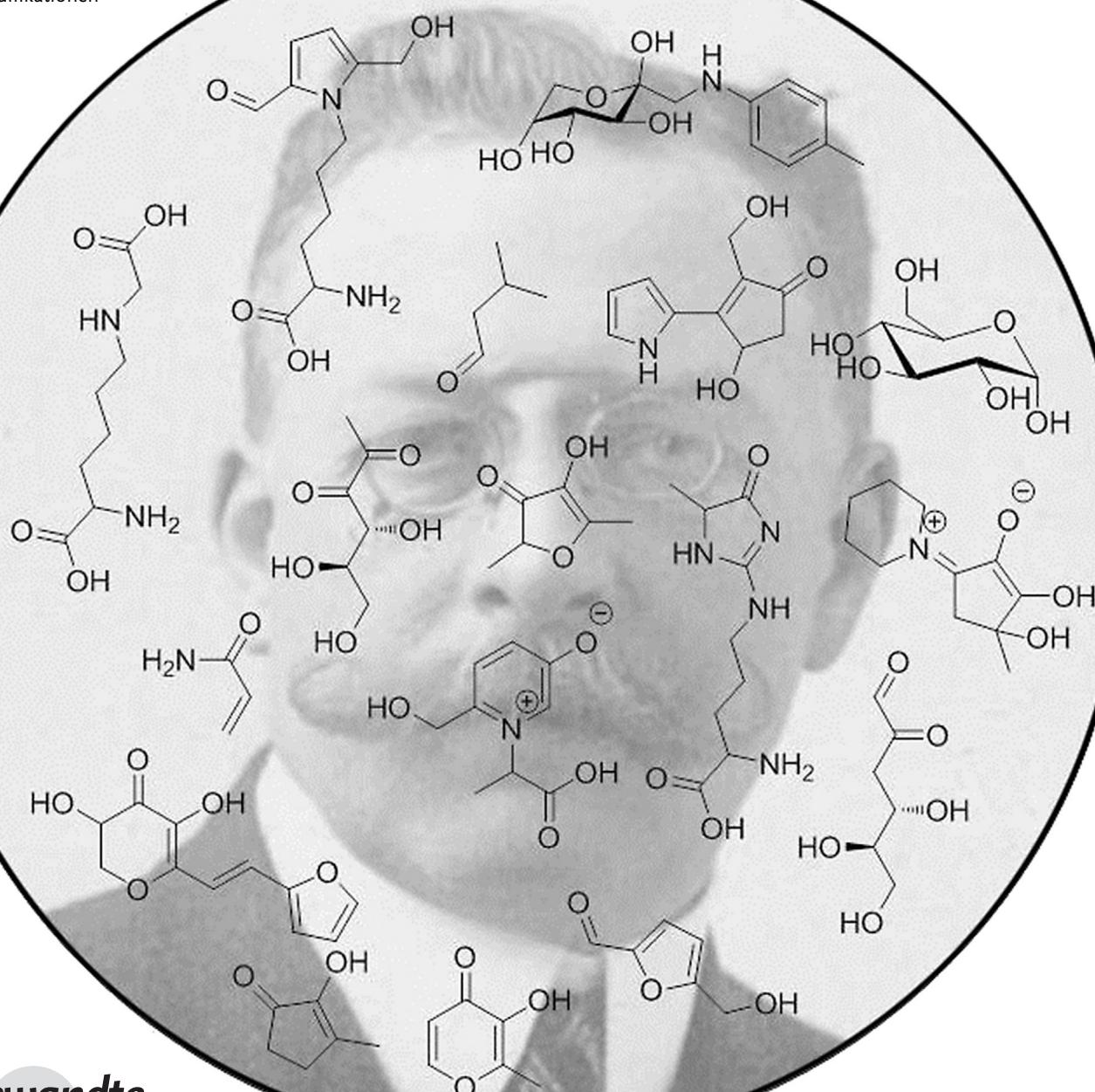
Stichwörter:

Diabetes · Glykierung · Lebensmittel ·

Maillard-Reaktion ·

Proteinmodifikationen

Professor Henning Klostermeyer
zum 80. Geburtstag gewidmet



Die 1912 erstmals von dem französischen Biochemiker Louis-Camille Maillard beschriebene Reaktion reduzierender Kohlenhydrate mit Aminokomponenten ist verantwortlich für den Geruch, den Geschmack und das Aussehen thermisch verarbeiteter Lebensmittel. Die Erkenntnis, dass entsprechende nicht-enzymatische Umsetzungen auch im Organismus auftreten, führte zur intensiven Erforschung der pathophysiologischen Bedeutung der Maillard-Reaktion bei Diabetes und Alterungsprozessen. Alimentäre Maillard-Produkte werden einerseits als „Glycotoxine“ und damit als Ernährungsrisiko, andererseits jedoch auch vermehrt im Hinblick auf positive Wirkungen im menschlichen Körper diskutiert. In unserem Aufsatz geben wir einen Überblick zu den wichtigsten Erkenntnissen der Maillard-Forschung seit ihrer Erstbeschreibung und zeigen, dass die komplexe Reaktion auch nach über hundert Jahren nichts an interdisziplinärer Aktualität verloren hat.

1. Einleitung

Louis-Camille Maillard (1878–1936) entdeckte im Jahre 1912 eher durch Zufall, dass sich Gemische aus Aminosäuren und Kohlenhydraten beim Erhitzen intensiv braun färben.^[1] Er legte damit die Grundlagen zum Verständnis der beim Kochen, Braten und Backen von Lebensmitteln ablaufenden nicht-enzymatischen Bräunungsreaktionen, über die bis dahin nur spekuliert worden war.^[2,3] Nach über 100 Jahren Forschung, über 50000 wissenschaftlichen Publikationen und 11 internationalen Symposien zur Maillard-Reaktion soll in diesem Aufsatz weniger die Chemie, sondern die Geschichte der Forschung zur Maillard-Reaktion thematisiert werden. Vor dem Hintergrund zahlreicher Übersichtsartikel zu einzelnen Aspekten der Maillard-Reaktion, seien es chemische,^[4–11] lebensmitteltechnologische,^[12,13] physiologische,^[8,14–16] aber auch historisch orientierte,^[15,17,18] erhebt der vorliegende Beitrag keinen Anspruch auf wissenschaftshistorische Vollständigkeit. Vielmehr wird versucht, im Rahmen eines historischen Abrisses die Strömungen und Tendenzen der Maillard-Forschung der vergangenen 100 Jahre anhand der jeweiligen Forschungsschwerpunkte deutlich zu machen und darzustellen, wann und wie Antworten auf zentrale wissenschaftliche Fragen erhalten wurden. Dabei orientieren wir uns an der nach wie vor akzeptierten Einteilung der Maillard-Reaktion in verschiedene Stadien („frühe“, „fortgeschritten“ und „finale“ Phase), die – wie nachfolgend ausgeführt wird – jeweils durch charakteristische Reaktionsprodukte gekennzeichnet sind. Wir werden erkennen, dass sich auch die Geschichte der Maillard-Forschung in nach- und nebeneinander einsetzende und ablaufende Phasen und „Bewegungen“ einteilen lässt – und dass die komplexe Reaktion auch über hundert Jahre nach ihrer Entdeckung nichts an Aktualität verloren hat.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	10483
2. Erste Phase: Maillard Reaktion – unde venis?	10483
3. Zweite Phase – die Maillard-Reaktion in Lebensmitteln	10485
4. Dritte Phase – die Maillard-Reaktion in vivo	10489
5. Vierte Phase – toxikologische Relevanz alimentärer Maillard-Reaktionsprodukte	10491
6. Ausblick: Maillard-Reaktion – quo vadis?	10492

2. Erste Phase: Maillard Reaktion – unde venis?

2.1. Maillard und „seine“ Reaktion

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts gelang Emil Fischer erstmals die chemische Synthese eines Dipeptids.^[19] Es wurden in der Folge Verfahren ausgearbeitet, mit denen Aminosäuren linear zu Peptiden verküpft werden konnten; die hierfür nötige Aktivierung erforderte jedoch relativ drastische chemische Bedingungen. Der französische Biochemiker Louis-Camille Maillard suchte nach alternativen Wegen, die auch in physiologischen Systemen ablaufen könnten, erforschte also als einer der ersten die Proteinbiosynthese. Maillard wurde am 04.02.1878 in Pont-à-Mousson im Nordosten Frankreichs geboren und hatte in Nancy Medizin und Naturwissenschaften studiert.^[17] Während der Arbeiten zu seiner zweiten Promotion erhielt er verschiedene Aminosäuren in Glycerin und stellte fest, dass sich tatsächlich Peptide bildeten. Er postulierte, dass die bei 170°C ablaufende Reaktion durchaus von Enzymen *in vivo* katalysiert werden könnte, indem intermediär Aminosäureester des Glycerins gebildet werden.^[20] In einer weiteren Versuchsreihe setzte Maillard statt Glycerin Glucose als Polyalkohol ein, stellte dabei jedoch fest, dass sich nicht die von ihm erwarteten Peptide bildeten. Vielmehr nahm die Reaktion aufgrund der Reaktivität der Aldehydgruppe einen völlig unerwarteten Verlauf: Die Reaktionsmischung färbte sich beim Erhitzen in kurzer Zeit braun, und es bildete sich Kohlendioxid.^[1] Maillard stellte fest, dass die Reaktion nicht auf Glycin

[*] Dr. M. Hellwig, Prof. Dr. T. Henle
Professur für Lebensmittelchemie
Technische Universität Dresden
D-01062 Dresden (Deutschland)
E-Mail: Thomas.Henle@chemie.tu-dresden.de
Homepage: <http://www.chm.tu-dresden.de/lc1>

und Glucose beschränkt ist, sondern dass weitere Aminosäuren, Peptide, Peptone und Zucker in gleicher Weise, wenn auch unterschiedlichem Ausmaß, reagieren.^[21] Vor allem zwischen einzelnen Zuckern zeigten sich erhebliche Reaktivitätsunterschiede. So reagierten Pentosen schneller als Hexosen und Hexosen schneller als Disaccharide. Saccharose reagierte überhaupt nicht.^[21] Die Bildung von CO₂ führte Maillard auf die Decarboxylierung der Aminosäure zurück, nachdem er die Inkubation in verschiedenen Gasatmosphären (O₂, N₂, H₂) durchgeführt hatte. Maillard konnte aus den Reaktionsmischungen jedoch keine definierten Strukturen isolieren.^[21]

Maillards Erkenntnisse waren insofern fundamental, als nunmehr mit Aminosäuren und Zuckern Ausgangsverbindungen identifiziert waren, die wegen ihrer weiten Verbreitung in der Natur praktisch überall miteinander reagieren können, nämlich, wie Maillard bereits postulierte, „*nicht nur in der Humanphysiologie und -pathologie, sondern auch in der Pflanzenphysiologie (...), Agronomie (...) und Geologie*“.^[1] Unter den über 100 Publikationen Maillards beschäftigen sich dennoch nur acht mit der Bräunungsreaktion.^[17] Maillard nahm als Freiwilliger am Ersten Weltkrieg teil und litt nach 1916 schwer an den Folgen einer Paratyphus-Infektion, die seine wissenschaftliche Leistung deutlich einschränkte. Nach seinem Wechsel an die Universität Alger wurden von ihm keine weiteren Untersuchungen zur nicht-enzymatischen Bräunung durchgeführt. Maillard starb am 12.05.1936 in Paris.^[17]

2.2. Wissenschaftliche Rezeption der Erkenntnis Maillards

Anders als allgemein angenommen, wurde die Bedeutung der Erkenntnisse Maillards bereits unmittelbar nach ihrer Veröffentlichung von anderen Forschern aufgegriffen und diskutiert. So lieferte Maillard^[1] mit seinen Beobachtungen Beiträge zur Einordnung der Bildung so genannter „Melanoidine“, indem er die bei der sauren Hydrolyse zu beobachtende Bräunung^[22] auf die Reaktion von Aminosäuren und Zuckern zurückführte. Mit Bezug auf Maillard wurde diese Melanoidinbildung den Abbaureaktionen des Tryptophans zugeschrieben.^[23] Maillard vermutete, dass Umsetzungen von Aminosäuren mit Zuckern auch für die Bildung braun gefärbter Substanzen bei der Humusbildung wesentlich seien.^[21] Diese Sichtweise wurde bereits von Zeitgenossen Maillards kritisiert^[24] und gilt heute als überholt, da Maillard

beispielsweise mikrobiologische Vorgänge sowie die Rolle des Lignins und der Chinonkondensation nicht in seine Be trachtungen mit aufgenommen hatte.^[25]

Interessanterweise hat Maillard bei der Diskussion zur Bedeutung „seiner“ Reaktion Lebensmittel nicht erwähnt.^[1,21] Ein Zeitgenosse von Maillard, C. J. Lintner aus dem gärungchemischen Laboratorium der damaligen königlich-technischen Hochschule München, schrieb jedoch der Reaktion zwischen Aminosäuren und Zuckern eine immense technologisch-funktionelle Bedeutung im Darr- und Brauprozess und bei der Aromabildung zu.^[26] Lintners Mitarbeiter Ruckdeschel postulierte, dass sich während der „Maillard-schen Reaktion“ das Malzaroma vor allem durch Umsetzungen der Aminosäure Leucin bildet.^[27] In diesem Zusammenhang entdeckte Akabori^[28] im Jahre 1927, dass bei der Decarboxylierung von Aminosäuren in Gegenwart von Glucose in hohen Ausbeuten Aldehyde gebildet werden. Andere Carbonylverbindungen wie etwa Glyoxal, Methylglyoxal oder Diacetyl führten ebenso zur Aldehydbildung.^[29] Akabori bezweifelte, dass die Glucose unverändert aus dieser Reaktion hervorgeht, führte hierzu jedoch keine systematischen Studien durch.^[30] Erst Schönberg und Moubacher zeigten, dass für die Aldehydbildung immer *vic*-Dicarbonylverbindungen nötig sind, die während der Maillard-Reaktion intermediär entstehen.^[31] Diese Abbaureaktion wird seit 1948 nach ihrem Entdecker Adolph Strecker „Strecker-Abbau“ genannt.^[31] Somit ließ sich das Postulat von Ruckdeschel bestätigen, da aus Leucin während des Strecker-Abbaus 3-Methylbutanal gebildet wird (Schema 1), das ein wichtiger Aromastoff in Malz ist.^[32]

2.3. Amino-Carbonyl-Reaktion und Amadori-Umlagerung

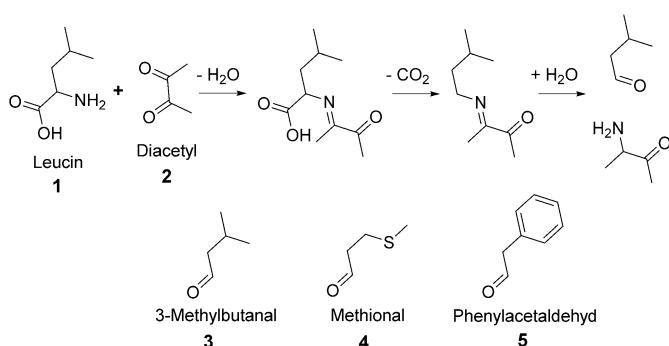
Unabhängig von Forschungen zur Bräunungsreaktion Maillards versuchte der italienische Chemiker Mario Amadori in den 1920er Jahren, ältere Arbeiten^[33,34] über Kondensationsreaktionen aromatischer Amine mit Glucose experimentell nachzuvollziehen.^[35] Dabei erhielt er beispielsweise für *p*-Toluidin außer einem schon früher beschriebenen „stabilen Produkt“^[33,34] noch ein weiteres, „labiles Produkt“. Amadori ordnete dem labilen Produkt die Struktur eines *N*-Glucosids und dem stabilen Produkt die einer Schiff-Base zu.^[35] In der Arbeitsgruppe des österreichisch-deutschen Nobelpreisträgers Richard Kuhn wurde zwar die Struktur des labilen Produktes bestätigt,^[36] nicht jedoch die des stabilen.



Thomas Henle promovierte 1991 und habilitierte 1996 an der Technischen Universität München. Seit 1998 ist er Inhaber der Professur für Lebensmittelchemie an der Technischen Universität Dresden. Seine Forschungsinteressen sind die Struktur und Wirkung verarbeitungsinduzierter Lebensmittel-inhaltsstoffe, posttranskriptionale Proteinmodifikationen und natürliche Nanostrukturen in Lebensmitteln.

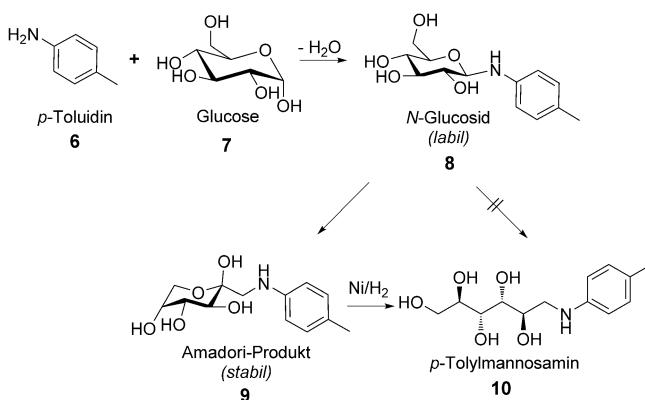


Michael Hellwig studierte Lebensmittelchemie an der Technischen Universität Dresden und promovierte 2011 im Arbeitskreis von T. Henle. Sein Forschungsinteresse gilt Glykierungs- und Oxidationsreaktionen in Lebensmitteln in präparativer und analytischer Hinsicht sowie ihrer Relevanz im Metabolismus.



Schema 1. Strecker-Abbau von Aminosäuren und Beispiele für Strecker-Aldehyde in Lebensmitteln.

Zum einen sprach gegen die Zuordnung als Schiff-Base die Stabilität der Verbindung in Gegenwart von Säuren, zum anderen bildete sich bei der Hydrierung statt eines Glucitolamins ein Mannitolamin, sodass eine Umlagerung am Zuckerrest stattgefunden haben musste (Schema 2).^[37] Durch dieses Reaktionsverhalten unterscheiden sich α -Hydroxyaldehyde, zu denen die Aldosen gehören, fundamental von gewöhnlichen Aldehyden. Die Umlagerung der labilen *N*-Glycoside wurde von Kuhn und Weygand „Amadori-Umlagerung“ genannt, und die 1-Amino-1-desoxy-2-ketosen wurden später als „Amadori-Produkte“ bezeichnet.



Schema 2. Umlagerung des *p*-Tolyl-*N*-glucosids zum Amadori-Produkt.

Die Ergebnisse ließen sich auf die Reaktion von Kohlenhydraten mit α -Aminosäuren in Lebensmitteln übertragen. Beispielsweise wurde unter Verwendung von Polarimetrie und Kryoskopie festgestellt, dass die Reaktion der Zucker mit den freien Aminogruppen aliphatischer Aminosäuren im Verhältnis 1:1 abläuft und im Basischen beschleunigt ist.^[38,39] Es gelang jedoch lange nicht, entsprechende Reaktionsprodukte zu isolieren, sodass bis 1951 die Ansicht vorherrschte, dass die Amadori-Umlagerung auf die *N*-Glycoside aromatischer Amine beschränkt sei.^[5,40] Die in Lebensmitteln wichtigen Amadori-Produkte aliphatischer Amine oder Aminosäuren wurden erst in den 1950er Jahren zugänglich.^[41,42] Die beiden Isomere des für die Proteinche-

mie sehr wichtigen Fructoselysins (*N*- α - und *N*- ϵ -Fructoselysin) wurden 1962 erstmals durch Anwendung der Ionenaustauschchromatographie isoliert.^[43]

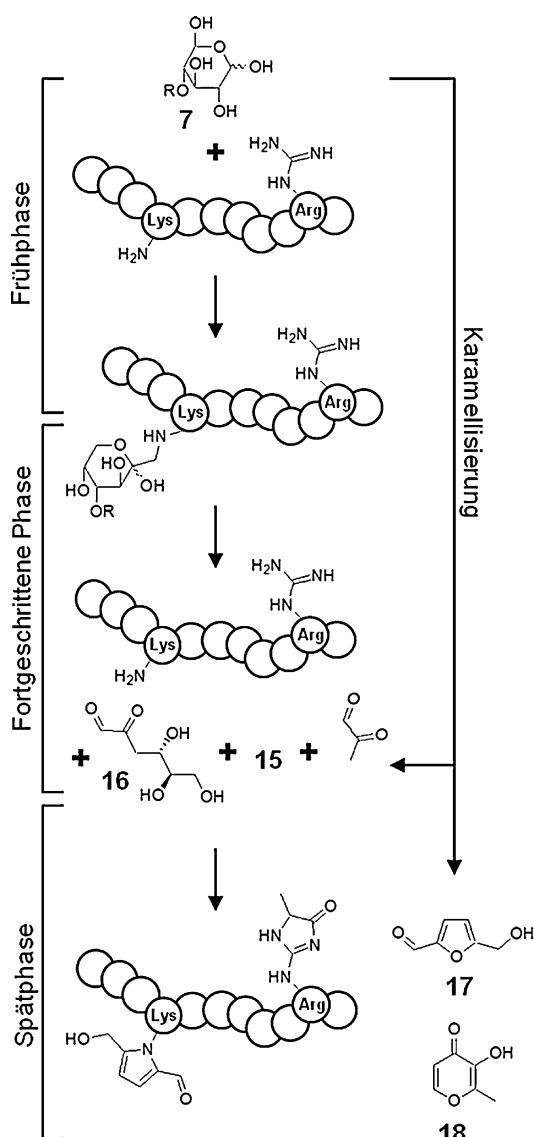
Kurt Heyns, Chemiker am Chemischen Institut der Universität Hamburg, beobachtete die Bildung von *D*-Glucosamin bei der Umsetzung von Fructose mit Ammoniak.^[44] Kurz darauf wurde die Reaktion von Carson^[45] und auch von Heyns et al.^[46] auf Derivate aliphatischer Amine und Aminosäuren übertragen. Die der Amadori-Umlagerung analoge Bildung von Aldosederivaten aus Aminosäuren und Ketosen wird heute Heyns-Umlagerung genannt. Amadori- und Heyns-Umlagerung haben auch präparative Bedeutung.^[47]

3. Zweite Phase – die Maillard-Reaktion in Lebensmitteln

3.1. Bräunung – erwünscht oder unerwünscht?

Bis in die 1940er Jahre wurde nur punktuell versucht, die Bedeutung der Maillard-Reaktion für die chemischen Veränderungen während der Herstellung, Verarbeitung und Lagerung von Lebensmitteln zu beschreiben. Während des Zweiten Weltkrieges stieg jedoch der Bedarf an länger haltbaren getrockneten oder hitzebehandelten Lebensmitteln stark an, und damit auch das Interesse an der Bräunungsreaktion.^[48,49] Die Bezeichnung „Maillard-Reaktion“ wird seit den 1940er Jahren in der lebensmittelchemischen Literatur ohne Zitat verwendet.^[49,50] Vor allem aus industrieller Sicht bestand ein starkes Interesse an einer Hemmung unerwünschter Bräunungsreaktionen etwa in Trockenfrüchten oder Milchpulver.^[51] In solchen Produkten wurde die Wasserkaktivität als entscheidende Stellschraube im Reaktionsverlauf erkannt.^[52] Hieraus folgten direkt Maßnahmen zum Erhalt des Nährwertes der Lebensmittel, indem beispielsweise die Walzentrocknung von Milch zur Milchpulverherstellung weitgehend zurückgedrängt wurde. Erst in neuerer Zeit wird die Maillard-Reaktion auch genutzt, um die Funktionalität von Proteinen in Lebensmitteln für technologische Anwendungen gezielt zu beeinflussen.^[13]

Die Streitfrage, ob die ersten stabilen Produkte der Maillard-Reaktion in Lebensmitteln Glycosylamine oder Amadori-Produkte sind,^[5,53,54] entschied sich Anfang der 1950er Jahre zugunsten der Amadori-Produkte, nachdem deren unabhängige Synthese gelungen war.^[41,55] Basierend darauf legte John E. Hodge, Chemiker am Northern Regional Research Institute in Peoria (Illinois, USA), 1953 im ersten Band des *Journal of Agricultural and Food Chemistry* eine umfassende schematische Darstellung der Reaktion vor, die bis heute grundlegend geblieben ist. Hodge schrieb der Amadori-Umlagerung eine Schlüsselrolle im Reaktionsgeschehen zu und teilte die Reaktion in eine frühe Phase (Bildung der Amadori-Produkte), eine fortgeschrittene Phase (Abbau der Amadori-Produkte) und eine späte Phase (Bildung der Melanoidine) ein (Schema 3).^[6] Es gelang ihm, die Gemeinsamkeiten mehrerer Reaktionswege (Amino-Carbonyl-Reaktionen, Karamellisierung, oxidative Reaktionen) herauszuarbeiten und sie als „partielle Mechanismen“ unter



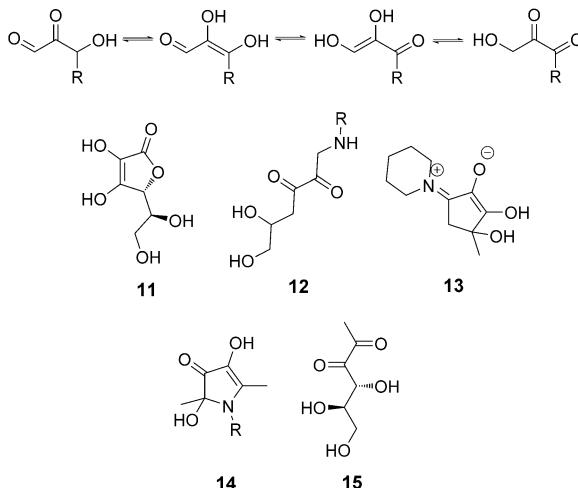
Schema 3. Maillard-Reaktion an Proteinen.

dem Dach einer einzigen Bräunungsreaktion zu vereinigen. Hodge führte die „katalytische Rolle“,^[41,56] die Amine beim Zuckerabbau spielen, auf die Bildung und den anschließenden Abbau des Amadori-Produktes zurück. Dabei geht das Amin zunächst wieder unverändert hervor, kann später aber einer Reaktion mit den Zuckerabbauprodukten, etwa dem Strecker-Abbau, unterliegen.

3.2. Abbau der Amadori-Produkte und Aromabildung

Basierend auf dem Übersichtsartikel von Hodge^[6] wurden in der Folge zahlreiche Untersuchungen zum Abbau der Amadori-Produkte durchgeführt. In den 1950er bis 1970er Jahren bildeten sich dabei zwei wesentliche Strömungen, einmal zur Aufklärung der Lysinblockierung und einmal zur Untersuchung der Aromabildung. Während zunächst die Beschreibung der Produktfülle im Vordergrund stand,^[57] wurden später einzelne Reaktionswege genauer betrachtet

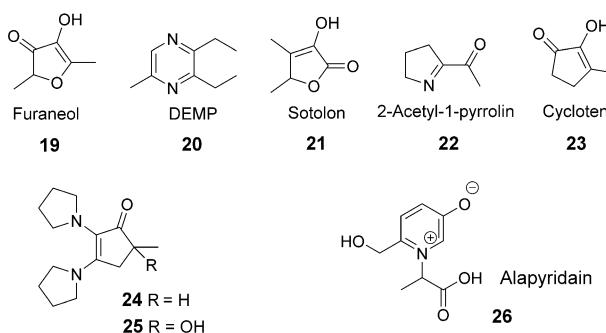
und unter lebensmittelrelevanten Bedingungen analysiert.^[58,59] Als Schlüsselverbindungen im Abbau der Amadori-Produkte wurden *vic*-Dicarbonylverbindungen identifiziert, insbesondere solche, die eine Reduktonstruktur (α -Ketoendiolstruktur, vgl. Ascorbinsäure **11**) aufweisen.^[7,55,60] Reduktone wie **12** und **13** können sich aus Amadori-Produkten direkt bilden, während die Pyrrolinonderivate **14** aus primären Aminen erst durch Reaktion mit dem Zuckerabbauprodukt 1-Desoxyglucosidulose (1-DG, **15**) entstehen.^[61,62] Die leichte Oxidierbarkeit der Reduktone kann einen Teil der antioxidativen Eigenschaften von Melanoidinen erklären (Schema 4).^[63]



Schema 4. Reduktone in Lebensmitteln und Modellansätzen. Tautome-re Strukturen und relevante Verbindungen.

In den für Lebensmittel wichtigen pH-Wertbereichen verläuft der Abbau auf mehreren Wegen über charakteristi-sche Verbindungen mit zwei vicinalen Carbonylgruppen (*vic*-Dicarbonylverbindungen) als Zwischenprodukte.^[8] Die quantitativ wichtigste Verbindung ist hierbei das 3-Desoxy-glucoson (3-DG, **16**; Schema 3), das in Zuckerabbaureak-tionen schon von Wolfrom et al.^[56] postuliert und von Anet 1960 erstmals isoliert und charakterisiert wurde.^[60] Damit wurde erkannt, dass sich Hydroxymethylfurfural (HMF, **17**) nicht direkt am Protein bildet, sondern erst nach Abspaltung der Vorstufe 3-DG. *vic*-Dicarbonylverbindungen wie **12** und **15** wurden erst in den 1980er Jahren der Analytik zugänglich gemacht, nachdem Moree-Testa und Saint-Jalm die aus der Synthesechemie bekannte Bildung von Chinoxalinen aus Dicarbonylverbindungen und *o*-Phenyldiamin zur Analytik dieser Produkte in Zigarettenrauch eingesetzt hatten.^[64] Diese Derivatisierungsmethode wird seitdem zur Aufklärung von Reaktionswegen im Zuckerabbau^[65–67] und zur Analyse der Verbindungen in Lebensmitteln und physiologischen Medien angewendet.^[68,69] Die *vic*-Dicarbonylverbindungen können zu kürzerkettigen Carbonsäuren, Carbonyl- und Di-carbonylverbindungen fragmentieren, die selbst aromaaktiv sein können, wie das nach Butter riechende Diacetyl (**2**). Wichtiger als ihr eigener Beitrag zum Aroma ist jedoch ihre Rolle beim Strecker-Abbau. Darüber hinaus bilden sich aus

den *vic*-Dicarbonylverbindungen Homo- und Heterocyclen, unter denen sich wichtige Aromastoffe finden: Pyrazine, Pyranone wie Maltol (**18**), Furane, Furanone, Pyrrole und schwefelhaltige Verbindungen wie Thiophene und Thiazole.^[70] Das Aroma einzelner erhitze Lebensmittel lässt sich dabei nie durch nur einen einzigen Aromastoff hinreichend imitieren. Zur Aufklärung des Aromaprofils wurde in den 1980er Jahren die Kopplung der GC mit der Olfaktometrie (GC-O) entwickelt,^[71] bei der der GC-Effluent von Proben abgerochen wird. Mit dieser Methode wurden beispielsweise in der Arbeitsgruppe von Grosch an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in Garching der Erdbeeraromastoff Furaneol (**19**) und das Pyrazin DEMP (**20**) neben Methional (**4**) in gebratenem Fleisch^[72] sowie Sotolon (**21**) und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin in geröstetem Kaffee^[73] als aus der Maillard-Reaktion stammende Verbindungen mit starkem Einfluss auf das Aroma nachgewiesen (Schema 5). Interessanterweise wurde auch die „Erdbeerno-

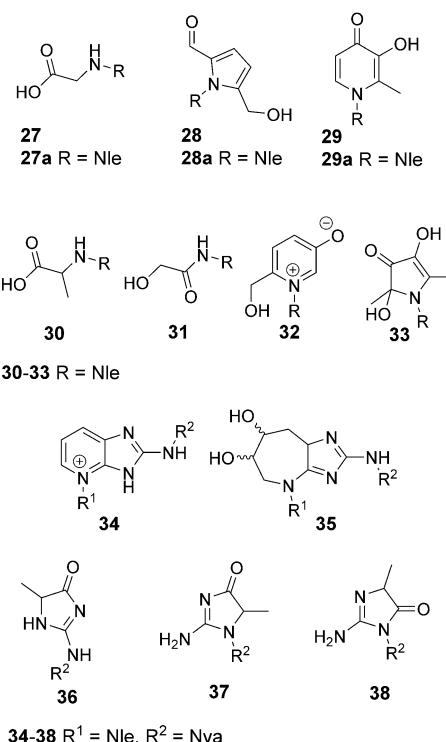


Schema 5. Während der Maillard-Reaktion oder Karamellisierung entstehende Aroma- und Geschmacksstoffe.

te“ als Fremdaroma in Wein auf Furaneol zurückgeführt.^[74] Wichtigster Aromastoff in Weißbrotkruste ist das 2-Acetyl-1-pyrrolin (**22**; Popcornaroma^[75]). Typische Karamellaromen, die auch in Abwesenheit von Aminen entstehen, sind Furaneol (**19**) und Cycloten (**23**).^[76]

Außer diesen erwünschten Aromen bilden sich während der Maillard-Reaktion auch Fehlaromen wie Bitterstoffe, was in der Arbeitsgruppe von Belitz an der TU München am Beispiel der aus „gerösteten“ Prolin-Saccharose-Mischungen isolierten substituierten Aminohexosereduktone **24** und **25** gezeigt wurde.^[77] In jüngerer Zeit wurde mit dem Alapyridain (**26**) ein Maillard-Produkt beschrieben, das geschmacksverstärkend auf verschiedene Geschmacksarten wirkt.^[78]

Die in der fortgeschrittenen Phase gebildeten, hoch reaktiven Zwischenprodukte reagieren in der finalen Phase der Reaktion zu stabilen Endprodukten. Angriffspunkt für die sehr elektrophilen Dicarbonylverbindungen sind wiederum freie Aminogruppen. Als besonders wichtige Reaktionswege außer der Bildung des Amadori-Produktes



Schema 6. Strukturen ausgewählter Produkte der fortgeschrittenen Maillard-Reaktion (advanced glycation end products). Nle = Norleucin, Nva = Norvalin.

und dem Strecker-Abbau wurden hierbei die Bildung N-carboxyalkylierter Aminosäuren **27** und N-heterocyclischer Systeme (beispielsweise **28**, **29**) erkannt,^[79,80] die sich aus Reaktionen mit *vic*-Dicarbonylverbindungen ergeben (Schema 6). In Gegenwart von Disacchariden resultieren, wie bei der Karamellisierung,^[81] spezifische Produkte wie die Pyridinone **29** (Tabelle 1).^[82]

Als die Maillard-Reaktion im menschlichen Körper ab Anfang der 1980er Jahre intensiver untersucht wurde (siehe Abschnitt 4), stieg auch das Interesse an der Bildung proteingebundener Maillard-Produkte in Lebensmitteln. Hier treten die Reaktionen am N-Terminus in den Hintergrund, und es reagieren vor allem die nucleophilen Seitenketten von Aminosäuren, besonders die ε-Aminogruppe des Lysins sowie die Guanidinoseitenkette des Arginins. Die Reaktivität

Tabelle 1: Gehalte ausgewählter Maillard-Reaktionsprodukte in Lebensmitteln.

Lebensmittel	ARP ^[83,84] [g kg ⁻¹] ^[a]	CML ^[85,86] [mg kg ⁻¹]	Pyrralin ^[87] [mg kg ⁻¹]	Pentosidin ^[88] [mg kg ⁻¹]	AGE ^[89] [MU/kg]
Milch, pasteurisiert	ca. 0.1	0.2–0.5	n.n.	n.n.	0.01–00.1 ^[b]
Kondensmilch	7–18	46	0.4–3.2	0.02–0.04	–
Teigwaren	1–19	2.4–3.0	n.n.–12	–	–
Brot	6–7	3–40	6–69	–	1.1–1.5
Brotkruste	–	37–46	60–240	0.03–0.18	0.4–0.7
Fleisch, gebraten	–	2–20	–	–	47–100
Butter	–	0.3–0.4	–	–	233–265
Kaffee, geröstet	–	–	–	1.0–4.0	–

[a] Amadori-Produkt berechnet als Fructoselysin. [b] Art der Hitzebehandlung nicht angegeben. n.n.: nicht nachweisbar, -: keine Werte verfügbar.

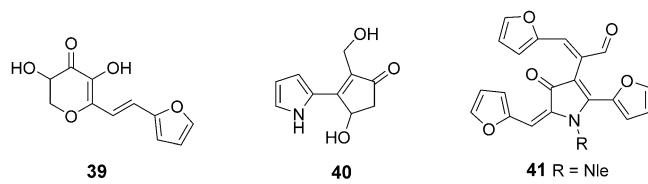
einzelner Proteine ist dabei abhängig von der Aminosäurezusammensetzung, Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur und insbesondere von der Gegenwart des Cysteins.^[90] Für diese sich an Proteinen anreichernden Aminosäurederivate wurde der Begriff „advanced glycation end products“ (AGEs) geprägt.^[91] Als erste Struktur wurde das aus der Reaktion von Lysinresten mit 3-DG entstehende Pyrralinal (28a)^[92] aufgeklärt, später Carboxymethyl- (27a)^[93] und Carboxyethyllysin (30).^[94] Amide 31,^[95] Pyridiniumbetaine des Typs 32^[96] und Pronyllysin (33).^[97] Die Glykierung von Aminogruppen in Aminophospholipiden (Phosphatidylethanolamin und -serin) führt zu ähnlichen Produkten.^[98,99] Unter den AGEs finden sich auch die Vernetzungsprodukte Pentosidin (34)^[100] und Glucosepan (35).^[101] Proteingebundenes Arginin reagiert mit 1,2-Dicarbonylverbindungen vor allem zu Hydroimidazolonen (Schema 6). Die Blockierung des Arginins mit Cyclohexandion wurde in den 1960er Jahren verwendet, um bei der tryptischen Hydrolyse von Proteinen längere oder überlappende Peptide zu generieren.^[102] Die analog aus Methylglyoxal entstehende Verbindung MG-H1 (36) wurde 1994 erstmals beschrieben und in Lebensmitteln nachgewiesen.^[103] Außer der δ-N-exocyclischen Struktur 36 können auch die Verbindungen MG-H2 (37) und MG-H3 (38) entstehen, wenn die Dicarbonylverbindung am δ-N-Atom des Arginins angreift. Diese Strukturen resultieren analog auch aus anderen 1,2-Dicarbonylverbindungen.

Einige der genannten Verbindungen bilden sich auch direkt aus dem Amadori-Produkt, wenn bei dessen Abbau die Aminbindung (zunächst) erhalten bleibt. Dabei können sich Reduktonstrukturen wie 12 bilden. In solchen Strukturen sind Wanderungen der Carbonylgruppe durch den gesamten Zuckerrest beschrieben, die sich auf konsekutive Keto-Enol-Tautomerisierungen zurückführen lassen.^[104] CML (27a) kann sich einerseits oxidativ aus der Schiff-Base („Namiki-Weg“),^[105] andererseits durch Baeyer-Villiger-Oxidation aus dem Amadori-Produkt bilden.^[106] Unterschiede in der Bräunungsaktivität der Amadori-Produkte wurden auf die unterschiedliche Stabilität cyclischer Formen zurückgeführt, die durch die Substitution an der C-4-Position entscheidend beeinflusst werden.^[107]

Viele an der Seitenkette glykierte Aminosäuren wurden bereits mithilfe chromatographischer Methoden in Lebensmitteln nachgewiesen (Tabelle 1). Bei einer typischen „Western diet“ werden vom Menschen täglich ca. 1000 mg Amadori-Produkte und 25–75 mg AGEs, vor allem 27a und 28a, aufgenommen.^[108] Außer der chromatographischen Analytik werden bisweilen auch immunchemische Verfahren zur Quantifizierung von AGEs in Lebensmitteln herangezogen.^[89] So wurden mithilfe eines Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay (ELISA), der vor allem das CML erfassen soll, Werte ermittelt, die in deutlichem Gegensatz zu Ergebnissen stehen, die mit strukturbasierten Analysenmethoden gewonnen wurden (Tabelle 1). Interessanterweise korreliert der mit ELISA gemessene CML-Gehalt stärker mit dem Fett- als mit dem Kohlenhydratgehalt,^[109] was erhebliche Zweifel an der Spezifität des Antikörpers und der Identität der damit gemessenen Strukturen aufwirft.

3.3. Melanoidine

Für die braun bis schwarz gefärbten Endprodukte der Reaktion hat Maillard den Begriff „Melanoidine“ geprägt und für ihre Struktur einen heterocyclischen Charakter postuliert. Erste Erkenntnisse zum Aufbau der Melanoidine wurden aus Pyrolyse- und photometrischen Studien gewonnen, aus denen auf das Auftreten von Pyridin-, Pyrrol- und Furanringen geschlossen wurde.^[4,56] Damals wurde versucht, über die Ermittlung von Summenformeln und Molmassen eine definierte Struktur abzuleiten.^[48] Für die Melanoidine wurden zunächst Molmassen von 1000 bis 2000 Da erwartet,^[4] die nach Anwendung der Gelpermeationschromatographie deutlich nach oben korrigiert wurden.^[110] Heute wird von Massen bis über 100 kDa ausgegangen.^[111] Die strukturelle Charakterisierung der Melanoidine wird dadurch erschwert, dass auch andere Nahrungsbestandteile, vor allem phenolische Substanzen, in das Gerüst eingebaut werden können.^[111] Ein Nachweis definierter funktioneller Gruppen gelang erst in den 1980er Jahren durch Anwendung zweidimensionaler NMR-Spektroskopietechniken.^[112] Hinsichtlich der Struktur der Melanoidine wird heute angenommen, dass dehydratisierende und kondensierende Kohlenhydrate die Farbe bedingen und diese Aggregate über nucleophile Gruppen an Proteine gebunden sind.^[113] Dabei wird auch postuliert, dass durch den Kohlenhydratabbau sich wiederholende Strukturen (repeating units), vor allem mit Furan- und Pyrrolkernen, entstehen, die bisher jedoch nur in Modellsystemen beschrieben wurden.^[114,115] Nucleophile Aminosäureseitenketten an Proteinen, aber auch N-Termini und das Proteinrückgrat sollten damit „Keime“ darstellen, an denen sich diese wiederkehrenden Einheiten gruppieren können. Die Isolierung immer komplexerer Addukte aus Maillard-Reaktionsansätzen führte in den 1980er Jahren zur Synthese definierter farbiger Verbindungen wie 39 und 40 (Schema 7),^[116,117] die Grundbausteine höherpolymerer Melanoidine darstellen können. Mit dem Furfural-Additionsprodukt 41 wurde 1998 das erste proteingebundene gefärbte Lysinderivat isoliert.^[118]



Schema 7. Aus Modellsystemen isolierte farbige Verbindungen.

3.4. Ernährungsphysiologische Bewertung der Maillard-Reaktion

Die Tatsache, dass die biologische Wertigkeit von Maillardchpulver durch Erhitzung vermindert wird, ist seit langem bekannt.^[119] Es wurde jedoch erst in den 1930er Jahren durch Fütterungsexperimente erkannt, dass diese Nährwerteinbußen durch Zugabe der essentiellen Aminosäure Lysin oder intakter Proteine ausgeglichen werden können.^[120,121] Die hitzeinduzierte Wertminderung von Ma-

germilchpulver wurde erstmals von Henry et al.^[50] auf die Maillard-Reaktion und die damit zusammenhängende irreversible Modifizierung von Lysinresten zurückgeführt. Zur gleichen Zeit wurde erkannt, dass außer Lysin auch andere proteinogene Aminosäuren wie Arginin, Tryptophan und Methionin während der Reaktion mit Zuckern abgebaut werden.^[122,123] Die schlechtere Verwertbarkeit hitzegeschädigter Proteine kann zum Teil auf eine Verminderung der Verdaubarkeit zurückgeführt werden.^[124,125] Es soll an dieser Stelle jedoch nicht unerwähnt bleiben, dass sich durch die Erhitzung der Nährwert von Proteinen auch verbessern kann, indem beispielsweise Enzyminhibitoren inaktiviert werden oder durch Denaturierung die Verdaubarkeit verbessert wird.^[124,126]

Wegen der bedeutenden Rolle der essentiellen Aminosäure Lysin für den Nährwert von Proteinen wurden in der Folge chemische Methoden zur Beschreibung der Lysinblockierung etabliert. So wurde das ursprünglich zur Bestimmung N-terminaler Aminosäuren in Polypeptidketten verwendete 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol^[127] (Sanger-Reagens) seit Ende der 1950er Jahre zur Bestimmung des chemisch reaktiven und damit „verfügaren“ proteingebundenen Lysins eingesetzt.^[128] Bei bekanntem Ausgangsgehalt an Lysin konnte indirekt auf den Anteil des blockierten Lysins geschlossen werden.^[129] Eine direkte Messung der Lysinblockierung wurde erst Ende der 1960er Jahre nach Entdeckung des Furosins möglich.^[130,131] Fructoselysin und andere lebensmittelrelevante Amadori-Produkte des Lysins, wie Lactuloselysin und Maltuloselysin, setzen sich unter den Bedingungen der sauren Hydrolyse in reproduzierbarem Ausmaß in die Produkte Furosin, Pyridosin und CML um; daneben kommt es auch zur Rückbildung von Lysin.^[132,133] Mit dem Furosin stand erstmals ein Parameter zur Verfügung, der eine summarische Bestimmung der Amadori-Produkte des Lysins ermöglichte. Furosin wird seitdem als Qualitätsparameter für verarbeitete Lebensmittel eingesetzt.^[83,134] Die α -Aminogruppen freier Aminosäuren sowie die N-Termi von Polypeptiden und Proteinen reagieren ähnlich schnell zu den Amadori-Produkten wie die ϵ -Aminogruppe des Lysins,^[135] sind aber quantitativ nicht so bedeutsam. Bei der sauren Hydrolyse setzen sich diese Amadori-Produkte analog zu den *N*-(2-Furoylmethyl)-Aminosäuren um.^[131] Gehalte von Heyns-Produkten in Lebensmitteln wurden bisher nicht publiziert. Auch ist über die Rolle der Heyns-Produkte im Glykierungsgeschehen in vitro und in vivo bisher vergleichsweise wenig bekannt.

4. Dritte Phase – die Maillard-Reaktion in vivo

4.1. Glykierung des Hämoglobins

Bereits Maillard^[1] hatte erkannt, dass „seine“ Reaktion zwischen Glycin und Glucose auch bei 37°C stattfindet und dass letztlich – nach ausreichender Inkubationszeit – die analogen Reaktionsprodukte wie beim starken Erhitzen gebildet werden. In der Folgezeit wurde eine mögliche Bedeutung der Reaktion für physiologische Prozesse vielfach diskutiert,^[4,39] jedoch bedurfte es zunächst effektiver Analysen-

methoden zum eindeutigen Nachweis einer in vivo ablauenden Maillard-Reaktion. 1955 wurde bei elektrophoretischen Untersuchungen des humanen Hämoglobins eine unbekannte Variante des Blutproteins beschrieben,^[136] die Samuel Rahbar am Albert-Einstein-College of Medicine in New York 1968 erstmals mit *Diabetes mellitus* in Verbindung brachte.^[137] Man erkannte, dass in dieser als HbA_{1C} bezeichneten Hämoglobinvariante der N-terminale Valinrest der β -Kette als Amadori-Produkt vorliegt, gebildet über die aus Lebensmitteln bekannte nichtenzymatische Umsetzung mit Glucose.^[138,139] Der HbA_{1C}-Wert wird heute in der klinischen Chemie als wichtiger Parameter zur retrospektiven Beurteilung der mittleren Blutglucosekonzentration bei Diabetikern verwendet.^[140] Die Aufklärung der Struktur von HbA_{1C} bildete den Ausgangspunkt für die Erforschung der Maillard-Reaktion in physiologischen Systemen, für die zunächst der Begriff „nichtenzymatische Glykosylierung“ und später „Glycation“ („Glykierung“) geprägt wurde. Wegen ihrer interdisziplinären Bedeutung werden seit 1979 regelmäßig eigene Symposien zur Maillard-Reaktion abgehalten. Seit 2005 werden diese von der International Maillard Reaction Society (IMARS) organisiert.

Eine Besonderheit der Glykierung in vivo ist das Auftreten hoch reaktiver Stoffwechselintermediate wie Glycerinaldehyd-3-phosphat oder Dihydroxyacetophosphat.^[141] Besonders an Proteinen mit geringem „Turnover“ wie dem Collagen im Bindegewebe oder den α -Kristallinen der Augenlinse, die praktisch lebenslang der Glykierung ausgesetzt sind, ließen sich zahlreiche AGEs wie CML^[93] und Pentosidin^[100] nachweisen. Die Gehalte der AGEs in Körperproteinen steigen mit dem Alter an.^[142] Bei gesunden Erwachsenen tragen etwa 2 % der Körperproteine eine Modifizierung an Lysin- oder Argininresten, was vergleichbar ist mit dem Glykierungsgrad von Milchproteinen nach Pasteurisation.^[143] Die Körperproteine von Diabetikern sind wegen des erhöhten Blutzuckerspiegels 2–3-mal so stark glykiert wie jene von Normoglykämikern.^[144] Hauptprodukte der Glykierung in vivo sind die Hydroimidazolone MG-H1 (**36**) und 3DG-H sowie Fructoselysin^[143] und Glucosepan (**35**).^[101] Dass gerade die Glucose im Laufe der Evolution zum universellen Energieträger in lebenden Systemen geworden ist, wird darauf zurückgeführt, dass sie unter den Hexosen in Lösung den geringsten Anteil an offenkettiger Aldehydform und damit die geringste Reaktivität in der Maillard-Reaktion aufweist.^[145]

4.2. Pathophysiologie der Glykierung in vivo

Einschränkungen der Sehfähigkeit durch eine Trübung der Augenlinse (Katarakt, grauer Star) zählen zu den häufigsten Spätfolgen des Diabetes. Cerami und Monnier zeigten, dass sich die spektroskopischen Veränderungen der Augenlinse von Diabetikern induzieren lassen, wenn α -Kristalline mit reduzierenden Zuckern oder Zuckerphosphaten inkubiert werden.^[146] Bestimmte Formen des grauen Stars gehen sogar mit einer deutlichen Gelb- bis Braunfärbung einher.^[147] In den 1980er Jahren wurde die Beeinträchtigung der funktionellen Eigenschaften von Proteinen und Enzymen durch

die Derivatisierung von Lysin- und Argininresten sowie Proteinvernetzungsreaktionen während der Glykierung als Hauptursache für Diabetes-Spätfolgen angesehen.^[91] Verschiedene Folgeerscheinungen einer Diabeteserkrankung entsprechen typischen „Alterskrankheiten“, die bei Diabetes in deutlich früherem Lebensalter auftreten. Vor dem Hintergrund der neu erkannten Rolle der Maillard-Reaktion in vivo und den damit erklärbaren Kohlenhydrat-induzierten „Alterungsreaktionen“ von Proteinen wurde versucht, die Glykierung auch unmittelbar für das menschliche Altern verantwortlich zu machen (glycation hypothesis of ageing^[148]). Demzufolge soll sich der „Phänotyp“ des Alterns vor allem durch die Akkumulation und den Funktionsverlust glykierter Proteine bilden. So attraktiv diese Hypothese des „allmählichen Verzuckerns“ im Laufe des Lebens auch sein mag – konkrete molekulare Belege für die Auslösung pathophysiologischer Prozesse durch die Maillard-Reaktion in vivo stammen bislang überwiegend aus Untersuchungen mit Modellsystemen. So konnte beispielsweise der Verlust der katalytischen Aktivität der Ribonuclease A während der Glykierung direkt auf die Modifizierung zweier entscheidender Lysinreste im aktiven Zentrum zurückgeführt werden.^[149] Methylglyoxal kann Argininreste in Integrin-Bindungsmotiven des Collagen und anderer Proteine der extrazellulären Matrix zum MG-H1 (**36**) modifizieren und damit „unkennlich“ machen, sodass die dadurch beeinträchtigte Zell-Zell-Interaktion zu einer vaskulären Dysfunktion bei Diabetes beitragen kann.^[150,151] Untersuchungen an Modellorganismen könnten zukünftig konkretere Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Glykierungsprodukten und Alterungsprozessen liefern. So wurde für *Cae-norhabditis elegans* gezeigt, dass die durch hohe Glucosekonzentrationen im Medium induzierte Verringerung der Lebensspanne des Fadenwurms mit einer Akkumulation von AGEs an mitochondrialen Proteinen, verbunden mit erhöhtem oxidativem Stress, einhergeht.^[152] Eine Verfütterung von kohlenhydratmodifizierten Proteinen an *Drosophila melanogaster* führte ebenfalls zu einer Verkürzung der Lebenszeit, hier begleitet von einer Verringerung der Proteaseaktivität im Proteasom der Tiere.^[153]

Eindeutige Belege für eine ursächliche Rolle der Glykierung für Diabetes-Spätfolgen blieben bisher aus. Neuere Arbeiten machen die Überproduktion reaktiver Sauerstoffspezies, die durch die Überlastung der Elektronentransportkette in der Mitochondrienmembran wegen des gesteigerten Glucosemetabolismus in Insulin-unempfindlichen Zellen bedingt ist, als primäre Ursache verantwortlich. In der Folge soll es durch die Inhibierung der Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase als zentralem Enzym der Glycolyse zur „Umlleitung“ der Glucose in andere Stoffwechselwege und zur Anreicherung von Triosephosphaten kommen, aus denen sich wiederum 1,2-Dicarbonylverbindungen bilden können,^[154] die dann eine verstärkte Glykierung bedingen.

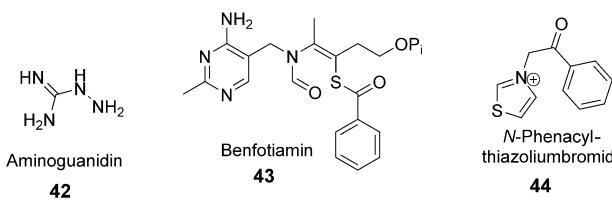
Vlassara et al. zeigten 1985, dass AGE-modifizierte Proteine von einem speziellen Rezeptor (receptor for advanced glycation end products, RAGE) gebunden werden können.^[155] Der Rezeptor wurde 1992 zum ersten Mal kloniert und charakterisiert.^[156] Eine Bindung von Liganden an den membranständigen Rezeptor löst an Endothelzellen in-

trazellulär eine Signalkaskade aus, die unter anderem zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB führt, der eine Schlüsselrolle in den molekularen Mechanismen inflammatorischer Reaktionen spielt.^[157] Durch NF-κB-abhängige Prozesse wird beispielsweise die Endotheloberfläche so verändert, dass koagulative Vorgänge begünstigt werden.^[158] Als Liganden für RAGE wurden zunächst AGE-modifizierte Proteine in die Diskussion gebracht. Insbesondere proteingebundenes Carboxymethyllysin (**27a**) sollte für die Bindung glykierter Proteine an den Rezeptor verantwortlich sein,^[159] womit die in vivo zirkulierenden AGEs ursächlich an Spätfolgen des Diabetes oder der Urämie beteiligt sein könnten. RAGE hat zwar unbestritten eine Bedeutung in der Ätiologie vaskulärer Krankheiten,^[160] neuere Studien stellen jedoch in Frage, ob die Aktivierung von RAGE tatsächlich durch AGE-modifizierte Proteine erfolgt.^[161]

Bislang ist es noch nicht gelungen, eindeutige Struktur-Wirkungs-Beziehungen für die Bedeutung individueller Glykierungsprodukte in definierten pathophysiologischen Prozessen in vivo aufzuzeigen. Die Frage, ob AGEs Ursache oder Folge (Epiphänomene) pathologischer Prozesse sind, bleibt damit weiterhin offen. Konkret belegt ist die Toxizität reaktiver Dicarbonylverbindungen nur bei Urämie, und hier im Speziellen bei einer Behandlung durch Peritonealdialyse.^[162] 1,2-Dicarbonylverbindungen, in der Nephrologie auch als „urämische Toxine“^[163] bezeichnet, reichern sich bei gestörter Nierenfunktion im Plasma an, können aber auch in großen Mengen bei der Sterilisation glucosereicher Peritonealdialyseflüssigkeiten entstehen.^[164,165] Aus diesem Grunde wurden Minimierungsstrategien erarbeitet, die in der Einführung von Mehrkammersystemen mündeten, bei denen Glucose getrennt von den anderen Inhaltsstoffen sterilisiert wird.^[166]

4.3. Pharmazeutische Intervention gegen die Glykierung

Wegen der postulierten pathophysiologischen Effekte der Glykierung in vivo wird bereits seit den 1980er Jahren versucht, die im Körper ablaufende Maillard-Reaktion medikamentös zu hemmen.^[167] In der Tat konnte in zunächst sehr vielversprechenden Tierstudien die Verabreichung großer Mengen an Aminoguanidin (**42**; Schema 8) Spätfolgen des Diabetes verhindern.^[168] Es wurde vermutet, dass Aminoguanidin Dicarbonylverbindungen über die Bildung von Triazinen abfangen und so die Bildung von AGEs an Proteinen verzögern kann. Klinische Studien an Diabetikern waren letztlich aber enttäuschend: Wegen massiver Neben-



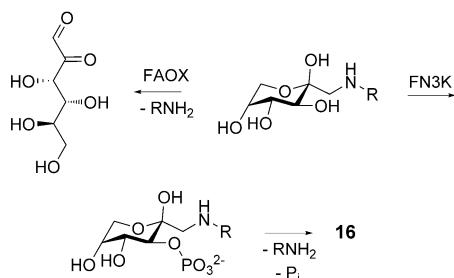
Schema 8. Strukturen von AGE-Inhibitoren und „AGE-Brechern“. P_i=anorganisches Phosphat.

wirkungen musste die Vision einer „Droge gegen das Altern“ zunächst aufgegeben werden.^[169]

Auch Pyridoxamin (Vitamin B₆), Thiamin (Vitamin B₁) und Benfotiamin (**43**) können Glykierungsreaktionen inhibieren.^[170,171] Eine weitere pharmakologische Strategie eröffnete sich mit der Entdeckung von „AGE-Brechern“ wie dem *N*-Phenacylthiazoliumbromid (**44**), die vernetzende Strukturen in Proteinen spalten sollten.^[172] Allerdings werden auch die bisherigen Ergebnisse dieser pharmazeutischen Inhibierung der AGE-Bildung *in vivo* derzeit als wenig überzeugend angesehen.^[173] Neueren Untersuchungen zufolge lassen sich die Effekte zahlreicher Verbindungen vor allem darauf zurückführen, dass die meisten AGE-Inhibitoren und „AGE-Brecher“ chelatisierend wirken und somit Autoxidationsreaktionen hemmen können, die mit der Glykierung einhergehen. Demgemäß wird eine Chelattherapie zur symptomatischen Behandlung des Diabetes vorgeschlagen.^[174]

4.4. Enzymatische Deglykierung: Reversion der Maillard-Reaktion *in vivo*

Fructosylaminidasen, die die oxidative Spaltung von Amadori-Produkten in einigen Bakterien und Pilzen katalysieren (Schema 9), waren bereits 1989 erstmals isoliert und



Schema 9. Enzymatischer Abbau von Amadori-Produkten.

charakterisiert worden.^[175] In den 1990er Jahren wurde festgestellt, dass enzymatische Deglykierungsreaktionen auch in höheren Organismen ablaufen. Die Arbeitsgruppe von Szwergold beschrieb erstmals, dass ein Enzym in Erythrocyten mit sehr geringer Affinität Fructose zu Fructose-3-phosphat umsetzen kann.^[176] Die Suche nach dem physiologischen Substrat mündete in den Jahren 2000 und 2001 in der Isolierung und Klonierung von zwei Ketosaminkinasen (Fructosamin-3-Kinase (FN3K) und fructosamine 3-kinase related protein (FN3K-RP)), die mit hoher Affinität Amadori-Produkte an der OH-Gruppe an der C-3-Position unter ATP-Verbrauch phosphorylieren.^[177–179] Die instabilen Phosphatester zerfallen nichtenzymatisch unter Rückbildung der Amine (Schema 9). Substrate der Ketosaminkinasen sind vor allem proteingebundene Amadori-Produkte, sodass über diesen Deglykierungsmechanismus modifizierte Lysinreste wieder in ihren nativen Zustand zurückgebracht werden können. Unterschiede zwischen der *In-vivo*- und der *In-vitro*-Glykierung des Hämoglobins^[180] ließen sich nun mit der un-

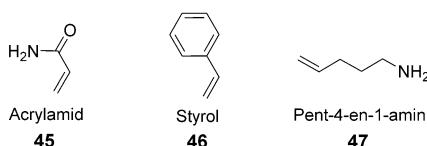
terschiedlichen Erreichbarkeit einzelner ARP-Reste durch FN3K erklären.^[181] Die Tatsache, dass sich im Laufe der Evolution „Schutzenzyme“ für glykierte Körperproteine entwickelt haben, unterstreicht eindrucksvoll, dass es sich bei der Maillard-Reaktion *in vivo* um eine „natürliche“ und aus chemischer Sicht unvermeidliche Reaktion handelt, die letztlich immer abläuft, wenn Proteine der Gegenwart von reduzierenden Kohlenhydraten ausgesetzt werden.

5. Vierte Phase – toxikologische Relevanz alimentärer Maillard-Reaktionsprodukte

5.1. Process-induced food toxicants (Prozesskontaminanten)

Krug et al. zeigten 1959 in einer Tierstudie, dass die Toxizität von Aminosäure/Zucker-Mischungen durch Erhitzung leicht ansteigen kann.^[182] Eine toxikologische Relevanz für die Ernährung insbesondere von Säuglingen wurde aber nicht gesehen.^[183] Ab Ende der 1970er Jahre wurden im Ames-Test mutagen wirkende Maillard-Verbindungen aus Modellansätzen und Lebensmitteln isoliert, darunter heterocyclische aromatische Amine (HAA), HMF (**17**) und Pyrralin (**28a**).^[184] HAA bilden sich während der Maillard-Reaktion unter Beteiligung des Kreatinins und sind daher praktisch ausschließlich in gebratenem Fleisch zu finden.^[185] Bestimmte heterocyclische Amine werden als möglicherweise cancerogen für den Menschen eingestuft. Für eine verlässliche Risikobewertung ist jedoch die Datenlage zu Gehalten in Lebensmitteln sowie zur Bioverfügbarkeit und Metabolisierung der Produkte noch nicht ausreichend.^[186] Für die Mutagenität von **17** wird eine Sulfatierung im hepatischen Phase-II-Metabolismus verantwortlich gemacht.^[187] Aus heutiger Sicht stellen die aus Lebensmitteln aufgenommenen HMF-Mengen kein Gesundheitsrisiko dar.^[188]

2001 wurde im Rahmen arbeitsmedizinischer Untersuchungen zur Acrylamidexposition von Bauarbeitern in Schweden festgestellt, dass auch in der nicht exponierten Kontrollgruppe Hämoglobinaddukte des Acrylamids (**45**) im Blut nachweisbar waren.^[189] Kurz darauf wurde das potenziell krebsfördernde Acrylamid (**45**) in relativ hohen Mengen erstmals in Lebensmitteln, hier vor allem in stark erhitzten kohlenhydrateichen Produkten wie Knäckebrot, Kartoffelchips und Pommes Frites nachgewiesen.^[190] Relativ schnell war klar, dass Acrylamid im Verlauf der Maillard-Reaktion aus Asparagin entsteht.^[191,192] Die Bildung erfolgt über einen Mechanismus, der inzwischen auch für analoge Verbindungen wie Styrol (**46**; aus Phenylalanin) und Pent-4-en-1-amin (**47**; aus Lysin)^[193,194] beobachtet wurde (Schema 10). Aus Gründen des vorbeugenden Gesundheitsschutzes wurden in den vergangenen zehn Jahren erhebliche Anstrengungen zur Senkung des Acrylamidgehaltes in Lebensmitteln unternommen (Optimierung der Temperatur/Zeit-Verläufe während der Verarbeitung, Nutzung asparaginarmer Kartoffel- und Getreidesorten, enzymatischer Abbau des Asparagins).^[195] In zahlreichen epidemiologischen Studien konnte bislang kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der alimentären Aufnahme von Acrylamid und einem erhöhten Krebsrisiko gefunden werden.^[196]



Schema 10. Acrylamid und strukturanealoge Verbindungen in Lebensmitteln und Modellansätzen.

5.2. AGEs als „Glycotoxine“

Mithilfe einer immunologischen Methode zeigten Koschinsky et al. 1997, dass alimentäre Glykierungsprodukte vom Körper aufgenommen werden und abhängig von der Nierenfunktion mehr oder weniger schnell wieder ausgeschieden werden. Die Autoren folgerten daraus, dass aus der Nahrung stammende Verbindungen einen bedeutenden Teil der *in vivo* zirkulierenden AGEs ausmachen.^[197] Letztlich, so vermuteten die Autoren, müssen damit auch von alimentären AGEs pathophysiologische Effekte ausgehen, was zur Prägung des heute sehr kontrovers diskutierten Begriffes „Glycotoxine“^[197] geführt hat. Die Aufnahme glycotoxinreicher Nahrung soll im Körper oxidativen Stress und Entzündungsreaktionen auslösen. Diese Hypothesen sind jedoch durchaus umstritten, da wegen unzureichender analytischer Charakterisierung der in den Testmahlzeiten vorhandenen Maillard-Produkte^[85,109] sowie möglicher anderer Reaktionen bei der Lebensmittelerhitzung (Vitaminabbau, Lipidperoxidation)^[198,199] die gemessenen physiologischen Effekte bislang nicht eindeutig den AGEs zugeordnet werden konnten. In Studien anderer Arbeitsgruppen wurden dagegen keine nachteiligen Wirkungen AGE-reicher Nahrung gefunden.^[200,201,202] Auf Basis der derzeitigen Studienlage bringt eine AGE-Restriktion in der Ernährung von Diabetikern keinen erkennbaren Vorteil.^[203]

5.3. Metabolischer Transit von Maillard-Reaktionsprodukten

Sowohl für toxische als auch für positive Wirkungen im Körper müssen AGE-modifizierte Lebensmittelproteine verdaubar sein und die entstehenden Peptide und Aminosäuren das Darmepithel passieren können. Erste Untersuchungen beschäftigten sich in den 1940er Jahren mit der Verdaubarkeit gebräunter Proteine, die durch die Modifizierung des Lysins und die Proteinvernetzung eingeschränkt werden kann.^[122] Bei geringen Glykierungsgraden kann sich die Freisetzung von Aminosäuren – wahrscheinlich aufgrund denaturierender Effekte – jedoch auch verbessern.^[125]

Fructoselysin wird von Verdauungsenzymen aus hitzebehandelten Milchproteinen fast vollständig in kurzkettigen Peptiden freigesetzt;^[204] es ist jedoch für Ratten nicht als Lysinquelle nutzbar.^[205] Werden Ratten mit Proteinen gefüttert, die mit radioaktiv markierter Glucose glykiert wurden, geht ein Teil der Radioaktivität in die Zirkulation über. Dies lässt auf eine Bioverfügbarkeit anderer Substanzen („Prämelanoidine“) schließen.^[204] Über den „metabolischen Transit“ alimentärer Maillard-Verbindungen im Humansystem gibt es bislang nur wenige Studien mit analytisch klar defi-

nierten Verbindungen. Die Bioverfügbarkeit einzelner Produkte ist dabei offenbar in entscheidendem Maße von ihrer Struktur abhängig. Der größte Teil der Maillard-Reaktionsprodukte in Lebensmitteln, die Amadori-Produkte, ist für den Menschen praktisch nicht bioverfügbar.^[206–208] Die Bioverfügbarkeit von HMF (17)^[209] und CML (27a)^[210] ist gering. Über die Nahrung zugeführtes Pyrralin (28a) (Schema 3) erscheint dagegen fast vollständig im Urin.^[207] Diese Unterschiede in der Bioverfügbarkeit lassen sich auf Unterschiede in den Freisetzung- und Resorptionseigenschaften zurückführen: Aminosäuretransporter vermögen keine glykierten Aminosäuren zu transportieren. Glykierte Dipeptide, die während der luminalen Verdauung entstehen können, sind jedoch zum Teil Substrate des intestinalen Peptidtransporters PEPT1.^[211] Für die nicht transportierbaren Amadori-Produkte wurde bereits gezeigt, dass sie durch die Darmmikrobiota abgebaut werden können.^[212] Ein konkreter Abbaumechanismus über ein zweistufiges Enzymsystem in *E. coli* wurde erstmals 2002 beschrieben.^[213]

6. Ausblick: Maillard-Reaktion – quo vadis?

Hinsichtlich eines chemisch-mechanistischen Gesamtbildes des Reaktionsverlaufs stellen die Bildung und der Abbau der Amadori-Produkte den wichtigsten Knotenpunkt der beginnenden Maillard-Reaktion dar.^[6] Die Identifizierung solcher Knotenpunkte im späteren Verlauf der Reaktion kann zu einem vertieften Verständnis der Melanoidinbildung führen. Ähnlich wie bei der strukturellen Charakterisierung der Huminsäuren^[214] können hier Aspekte der supramolekularen Chemie von Bedeutung sein. Es steht zu erwarten, dass noch eine Fülle bisher unbekannter Glykierungsprodukte sowohl aus Modellsystemen isoliert als auch in Lebensmitteln und im menschlichen Körper identifiziert und quantifiziert werden wird.

Von entscheidender Bedeutung für zukünftige physiologisch-chemische Forschungsarbeiten zur Maillard-Reaktion ist die Klärung der nach wie vor offenen Frage, ob die *in vivo* messbaren Glykierungsprodukte tatsächlich die Ursache für definierte pathophysiologische Prozesse bilden oder ob sie lediglich als Epiphänomene in deren Verlauf entstehen. Hier betrachten wir es als unverzichtbar, dass besonders in der biomedizinisch orientierten Forschung und Literatur chemisch exakte und analytisch eindeutige Begriffsbestimmungen zur Beschreibung von Maillard-Reaktionsprodukten verwendet werden. Der Begriff „AGE“ umschreibt, wie in diesem Aufsatz ausführlich dargestellt, eine nahezu unüberschaubare Vielfalt an individuellen Verbindungen. Entsprechend sind Angaben zum „AGE-Gehalt“ sowie Studien zu „durch AGEs induzierte Effekte“ ohne Konkretisierung der zugrundeliegenden Chemie für eine Ableitung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen letztlich wenig aussagekräftig. Um die Relevanz der Maillard-Reaktion für bestimmte Erkrankungen eindeutig aufzuzeigen, müssen physiologische Effekte in *In-vivo*-Studien auf chemisch definierte und analytisch eindeutig erfassbare Strukturen zurückgeführt werden. Dabei gilt es auch, Metabolite von Maillard-Reaktionsprodukten zu betrachten, die beispielsweise in Leber und Niere oder durch

die Darmmikrobiota gebildet werden. Ähnlich wie beim oben beschriebenen Acrylamid (**45**) muss in diesem Zusammenhang die mögliche Toxizität alimentärer Glykierungsprodukte beurteilt werden. Eine fundierte Risikobewertung einzelner Verbindungen wird damit zur interdisziplinären Herausforderung für die präparative und analytische Chemie, die Biologie und Medizin.^[215]

Aus lebensmittelwissenschaftlicher Sicht beschäftigt sich der überwiegende Teil der jüngeren Literatur zur Maillard-Reaktion mit Glykierungsprodukten als Prozesskontaminanten, also als „unerwünschte“, weil potenziell toxische oder den Nährwert verringende Verbindungen. Oftmals weniger beachtet werden dabei Publikationen gerade der letzten Jahre, in denen interessante positive Wirkungen von Maillard-Reaktionsprodukten diskutiert werden.^[216] So wurde beispielsweise in mehreren Studien gezeigt, dass Melanoidine in vitro und in vivo antioxidativ wirken und als Präbiotika die Zusammensetzung der Darmmikrobiota positiv beeinflussen können.^[217,218] Nach der Verfütterung von Brotkruste oder Malz mit definiertem Gehalt an Pronyllysin (**33** in Schema 6) an Ratten wurde eine erhöhte antioxidative Kapazität im Plasma der Versuchstiere, bedingt durch die Aktivierung potenziell „chemopräventiver“ Enzymsysteme wie der Glutathion-S-transferase (GST) und der UDP-Glucuronyltransferase (UDP-GT), beobachtet.^[219] Aus Modellansätzen isolierte und als chromophore Vorstufen für die Bildung von Melanoidinen identifizierte Furanone, Pyranone und Cyclopentenone wirkten in mikromolaren Konzentrationen inhibierend auf das Wachstum von Tumorzellen in vitro, möglicherweise aufgrund einer Hemmung der Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors Elk-1.^[220,221] Kaffeemelanodine sind in physiologisch relevanten Konzentrationen effiziente Inhibitoren für bestimmte Matrixmetalloproteininasen, denen eine zentrale Rolle in der Pathogenese kolorektaler Krebs-Erkrankungen zugeschrieben wird.^[222]

Aktuelle Literaturberichte lassen darauf schließen, dass die Menschheit bereits vor etwa einer Million Jahren das Feuer kontrollieren konnte^[223] und dieses vermutlich bereits zur thermischen Behandlung von Lebensmitteln einsetzte – und so letztlich auch die Maillard-Reaktion nutzte. Die mit der Erhitzung von Lebensmitteln einhergehende Verbesserung von Haltbarkeit, Verdaubarkeit, Geruch und Geschmack ist unbestritten. Einer aktuellen Theorie der anthropologischen Forschung nach war die Nutzung des Feuers zur Lebensmittelzubereitung der entscheidende evolutionäre Vorteil in der Entwicklung des Menschen.^[126] Geht man davon aus, dass die Nahrung der Menschheit seit mehreren Hunderttausend Jahren erhebliche Anteile verarbeitungsinduzierter Maillard-Produkte enthält, stellen sich fast zwangsläufig Fragen nach einer möglichen evolutionsbiologischen Relevanz dieser Nahrungsbestandteile. Hat sich der Metabolismus des *Homo sapiens* an eine biologische Verwertung von Glykierungsprodukten adaptiert? Verfügen wir über „artspezifische“ Entgiftungssysteme beispielsweise für hochreaktive Dicarbonylverbindungen (siehe Schema 3)? Sind alimentäre Aminosäurederivate der Maillard-Reaktion im Zusammenspiel oder im Wettbewerb mit den „konventionellen“ Aminosäuren für Signaltransduktionswege von Bedeutung? Hat sich die Mikrobiota des Dickdarms an die

Verwertung der im Dünndarm nicht resorbierten Maillard-Produkte adaptiert, und sind die entsprechenden Verbindungen damit als präbiotisch wirksame Strukturen für die Integrität der humanen Darmflora von Bedeutung?

Die grundlegende Bedeutung seiner Beobachtungen erkennend, war Maillard selbst überrascht, „dass sie [die Reaktion] nicht längst in ihren kleinsten Details bekannt ist.“^[1] Wir sind davon überzeugt, dass die Maillard-Reaktion auch nach über hundert Jahren Forschung noch viele Überraschungen bereithalten wird.

Eingegangen am 9. Oktober 2013,
veränderte Fassung am 12. Dezember 2013
Online veröffentlicht am 9. Juli 2014

- [1] L.-C. Maillard, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1912**, *154*, 66–68.
- [2] A. R. Ling, *J. Inst. Brew.* **1908**, *14*, 494–521.
- [3] C. J. Lintner, *Z. ges. Brauw.* **1911**, *34*, 585–589; C. J. Lintner, *Z. ges. Brauw.* **1911**, *34*, 601–603.
- [4] C. Enders, *Kolloid-Z.* **1938**, *85*, 74–87.
- [5] J. P. Danehy, W. W. Pigman, *Adv. Food Res.* **1950**, *3*, 241–290.
- [6] J. E. Hodge, *J. Agric. Food Chem.* **1953**, *1*, 928–943.
- [7] J. E. Hodge, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1955**, *10*, 169–205.
- [8] F. Ledl, E. Schleicher, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 597–626; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 565–594.
- [9] J. M. Ames in *Biochemistry of Food Proteins* (Hrsg.: B. J. F. Hutton), Elsevier Applied Sciences, Amsterdam, **1992**, S. 99–153.
- [10] H. Nursten, *The Maillard Reaction*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2005**.
- [11] G. Vistoli, D. DeMaddis, A. Cipak, N. Zarkovic, M. Carini, G. Aldini, *Free Radical Res.* **2013**, *47*, 3–27.
- [12] A. Patron, *Ind. Agric. Aliment.* **1951**, *68*, 251–256.
- [13] C. M. Oliver, L. D. Melton, R. A. Stanley, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2006**, *46*, 337–350.
- [14] D. G. Dyer, J. A. Blackledge, B. M. Katz, C. J. Hull, H. D. Adkisson, S. R. Thorpe, T. J. Lyons, J. W. Baynes, *Z. Ernährungswiss.* **1991**, *30*, 29–45.
- [15] F. J. Tessier, *Pathol. Biol.* **2010**, *58*, 214–219.
- [16] E. van Schaftingen, F. Collard, E. Wiame, M. Veiga-da-Cunha, *Amino Acids* **2012**, *42*, 1143–1150.
- [17] C. Billaud, J. Adrian, *Food Rev. Int.* **2003**, *19*, 345–374.
- [18] P. A. Finot, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, *1043*, 1–8.
- [19] E. Fischer, E. Fourneau, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34*, 2868–2877.
- [20] L.-C. Maillard, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1911**, *153*, 1078–1080.
- [21] L.-C. Maillard, *Ann. Chim.* **1916**, *5*, 258–316.
- [22] L. F. Barker, B. A. Cohoe, *J. Biol. Chem.* **1906**, *1*, 229–238.
- [23] O. Fürth, F. Lieben, *Biochem. Z.* **1921**, *116*, 224–231.
- [24] S. A. Waksman, *Soil Sci.* **1926**, *22*, 123–162.
- [25] J. Burdon, *Soil Sci.* **2001**, *166*, 752–769.
- [26] C. J. Lintner, *Z. ges. Brauw.* **1912**, *35*, 545–548; C. J. Lintner, *Z. ges. Brauw.* **1912**, *35*, 553–556.
- [27] W. Ruckdeschel, *Z. ges. Brauw.* **1914**, *37*, 430–432; W. Ruckdeschel, *Z. ges. Brauw.* **1914**, *37*, 437–440.
- [28] S. Akabori, *Proc. Imp. Acad.* **1927**, *3*, 672–674.
- [29] C. Neuberg, M. Kobel, *Biochem. Z.* **1927**, *185*, 477–479.
- [30] S. Akabori, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1933**, *66*, 143–150.
- [31] A. Schönberg, R. Moubacher, *Chem. Rev.* **1952**, *50*, 261–277.
- [32] E. Damm, H. Kringstad, *J. Inst. Brew.* **1964**, *70*, 38–42.
- [33] B. Sorokin, *J. Prakt. Chem.* **1888**, *37*, 291–317.
- [34] J. C. Irvine, A. Hynd, *J. Chem. Soc.* **1911**, *99*, 161–168.
- [35] M. Amadori, *Atti R. Accad. Lincei* **1929**, *9*, 68–72.

- [36] R. Kuhn, A. Dansi, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1936**, *69*, 1745–1754.
- [37] R. Kuhn, F. Weygand, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1937**, *70*, 769–772.
- [38] C. Neuberg, M. Kobel, *Biochem. Z.* **1925**, *162*, 496–501.
- [39] H. von Euler, E. Brunius, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1926**, *59*, 1581–1585.
- [40] L. I. Smith, R. H. Anderson, *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 963–971.
- [41] A. Gottschalk, *Biochem. J.* **1952**, *52*, 455–460.
- [42] A. Abrams, P. H. Lowy, H. Borsook, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 4794–4796.
- [43] K. Heyns, H. Noack, *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 720–727.
- [44] K. Heyns, W. Koch, *Z. Naturforsch. B* **1952**, *7*, 486–488.
- [45] J. F. Carson, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1881–1884.
- [46] K. Heyns, R. Eichstedt, K. H. Meinecke, *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 1551–1555.
- [47] T. M. Wrodnigg, B. Eder, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *215*, 115–152.
- [48] C. A. Weast, G. Mackinney, *Ind. Eng. Chem.* **1941**, *33*, 1408–1412.
- [49] M. A. Joslyn, *Ind. Eng. Chem.* **1941**, *33*, 308–314.
- [50] K. M. Henry, S. K. Kon, C. H. Lea, J. A. B. Smith, J. C. D. White, *Nature* **1946**, *158*, 348–349.
- [51] H. M. Barnes, C. W. Kaufman, *Ind. Eng. Chem.* **1947**, *39*, 1167–1170.
- [52] C. H. Lea, R. S. Hannan, *Biochim. Biophys. Acta* **1949**, *3*, 313–325.
- [53] C. H. Lea, R. S. Hannan, *Nature* **1950**, *165*, 438–439.
- [54] A. Gottschalk, S. M. Partridge, *Nature* **1950**, *165*, 684–685.
- [55] J. E. Hodge, C. E. Rist, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 316–322.
- [56] M. L. Wolfrom, R. D. Schuetz, L. F. Cavalieri, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 3518–3523.
- [57] F. D. Mills, B. G. Baker, J. E. Hodge, *J. Agric. Food Chem.* **1969**, *17*, 723–727.
- [58] P. E. Shaw, J. H. Tatum, R. E. Berry, *Carbohydr. Res.* **1971**, *16*, 207–211.
- [59] W. Baltes, G. Bochmann, *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 340–346.
- [60] E. F. L. J. Anet, *Aust. J. Chem.* **1960**, *13*, 396–403.
- [61] F. Weygand, H. Simon, W. Bitterlich, J. E. Hodge, B. E. Fisher, *Tetrahedron* **1959**, *6*, 123–128.
- [62] F. Ledl, G. Fritsch, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1984**, *178*, 41–44; M. Pischetsrieder, M. Schoetter, T. Severin, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 928–931.
- [63] C. Franzke, H. Iwainsky, *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* **1954**, *50*, 251–254.
- [64] P. Moree-Testa, Y. Saint-Jalm, *J. Chrom. A* **1981**, *217*, 197–208.
- [65] N. Morita, K. Inoue, M. Takagi, *Agric. Biol. Chem.* **1981**, *45*, 2665–2668.
- [66] J. Beck, F. Ledl, T. Severin, *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, 240–243.
- [67] M. Smuda, M. A. Glomb, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 4987–4991; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4887–4891.
- [68] W. Bednarski, L. Jedrychowsky, E. G. Hammond, Z. L. Nikолов, *J. Dairy Sci.* **1989**, *72*, 2474–2477.
- [69] J. Degen, M. Hellwig, T. Henle, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 7071–7079.
- [70] W. Baltes, *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* **1980**, *34*, 39–47.
- [71] T. E. Acree, J. Barnard, D. G. Cunningham, *Food Chem.* **1984**, *14*, 273–286.
- [72] C. Cerny, W. Grosch, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1993**, *196*, 417–422.
- [73] I. Blank, A. Sen, W. Grosch, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1992**, *195*, 239–245.
- [74] A. Rapp, W. Knipser, L. Engel, H. Ullmeyer, W. Heimann, *Vitis* **1980**, *19*, 13–23.
- [75] P. Schieberle, W. Grosch, *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 252–257.
- [76] L. W. Kroh, *Food Chem.* **1994**, *51*, 373–379.
- [77] H. M. E. Pabst, F. Ledl, H.-D. Belitz, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1984**, *178*, 356–360.
- [78] H. Ottinger, T. Soldo, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1035–1041.
- [79] H. Kato, *Agric. Biol. Chem.* **1967**, *31*, 1086–1090.
- [80] T. Nyhammar, K. Olsson, P. A. Pernemalm, *ACS Symp. Ser.* **1983**, *215*, 71–82.
- [81] J. E. Hodge, E. C. Nelson, *Cereal Chem.* **1961**, *38*, 207–221.
- [82] T. Severin, A. Loidl, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1976**, *161*, 119–124.
- [83] T. Henle, G. Zehetner, H. Klostermeyer, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1995**, *200*, 235–237.
- [84] H. F. Erbersdobler, V. Faist, *Nahrung* **2001**, *45*, 177–181.
- [85] S. H. Assar, C. Moloney, M. Lima, R. Magee, J. M. Ames, *Amino Acids* **2009**, *36*, 317–326.
- [86] G. L. J. Hull, J. V. Woodside, J. M. Ames, *Food Chem.* **2012**, *131*, 170–174.
- [87] M. Hellwig, T. Henle, *Eur. Food Res. Technol.* **2012**, *235*, 99–106.
- [88] T. Henle, U. Schwarzenbolz, H. Klostermeyer, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1997**, *200*, 235–237.
- [89] J. Uribarri, S. Woodruff, S. Goodman, W. J. Cai, X. Chen, R. Pyzik, A. Yong, G. E. Striker, H. Vlassara, *J. Am. Diet. Assoc.* **2010**, *110*, 911–916.
- [90] E. Ludwig, *Nahrung* **1979**, *23*, 707–714.
- [91] M. Brownlee, H. Vlassara, A. Cerami, *Ann. Intern. Med.* **1984**, *101*, 527–537.
- [92] T. Nakayama, F. Hayase, H. Kato, *Agric. Biol. Chem.* **1980**, *44*, 1201–1202.
- [93] M. U. Ahmed, S. R. Thorpe, J. W. Baynes, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 4889–4894.
- [94] M. U. Ahmed, E. Brinkmann Frye, T. P. Degenhardt, S. R. Thorpe, J. W. Baynes, *Biochem. J.* **1997**, *324*, 565–570.
- [95] M. A. Glomb, C. Pfahler, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 41638–41647.
- [96] O. Pachmayr, F. Ledl, T. Severin, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1986**, *182*, 294–297.
- [97] M. Lindenmeier, V. Faist, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6997–7006.
- [98] A. Ravandi, A. Kuksis, L. Marai, J. J. Myher, *Lipids* **1995**, *30*, 885–891.
- [99] C. M. Utzmann, M. O. Lederer, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1000–1008.
- [100] D. Sell, V. Monnier, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 21597–21602.
- [101] K. M. Biemel, D. A. Friedl, M. O. Lederer, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 24907–24915.
- [102] K. Toi, E. Bynum, E. Norris, H. A. Itano, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 1036–1043.
- [103] T. Henle, A. W. Walter, R. Haefner, H. Klostermeyer, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1994**, *199*, 55–58.
- [104] K. M. Biemel, J. Conrad, M. O. Lederer, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 826–828; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 801–804.
- [105] M. Namiki, T. Hayashi, Y. Ohta, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1977**, *86B*, 471–501.
- [106] M. Kasper, P. Schieberle, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, *1043*, 59–62.
- [107] Y. Kato, T. Matsuda, N. Kato, R. Nakamura, *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36*, 806–809.
- [108] T. Henle, *Kidney Int.* **2003**, *63*, S145–S147.
- [109] T. M. Buetler, E. Leclerc, A. Baumeyer, H. Latado, J. Newell, O. Adolfsson, V. Parisod, J. Richoz, S. Maurer, F. Foata, D. Piguet, S. Junod, C. W. Heizmann, T. Delatour, *Mol. Nutr. Food Res.* **2008**, *52*, 370–378.
- [110] H. G. Maier, W. Diemair, J. Ganssmann, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1968**, *137*, 282–292.
- [111] F. J. Morales, V. Somoza, V. Fogliano, *Amino Acids* **2012**, *42*, 1097–1099.

- [112] F. Hayase, S. B. Kim, H. Kato, *Agric. Biol. Chem.* **1986**, *50*, 1951–1957.
- [113] A. V. Clark, S. R. Tannenbaum, *J. Agric. Food Chem.* **1974**, *22*, 1089–1093.
- [114] K. Heyns, R. Hauber, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1970**, *733*, 159–169.
- [115] R. Tressl, G. T. Wondrak, L.-A. Garbe, R.-P. Krüger, D. Rewicki, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1765–1776.
- [116] F. Ledl, T. Severin, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1982**, *175*, 262–265.
- [117] S. B. Banks, J. M. Ames, H. E. Nursten, *Chem. Ind.* **1988**, *13*, 433–434.
- [118] T. Hofmann, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1998**, *206*, 251–258.
- [119] E. V. McCollum, M. Davis, *J. Biol. Chem.* **1915**, *23*, 247–254.
- [120] E. O. Greaves, A. F. Morgan, M. K. Loveen, *J. Nutr.* **1938**, *16*, 115–128.
- [121] L. Friedman, O. L. Kline, *J. Nutr.* **1950**, *40*, 295–307.
- [122] R. J. Evans, H. A. Butts, *Science* **1949**, *109*, 569–571.
- [123] A. Mohammad, H. Fraenkel-Conrat, H. S. Olcott, *Arch. Biochem. Biophys.* **1949**, *24*, 157–178.
- [124] H.-D. Cremer, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1951**, *92*, 407–422.
- [125] J. Mauron, F. Mottu, E. Bujard, R. H. Egli, *Arch. Biochem. Biophys.* **1955**, *59*, 433–451.
- [126] R. N. Carmody, R. W. Wrangham, *J. Hum. Evol.* **2009**, *57*, 379–391.
- [127] F. Sanger, *Biochem. J.* **1945**, *39*, 507–515.
- [128] C. H. Lea, R. S. Hannan, *Biochim. Biophys. Acta* **1950**, *4*, 518–531.
- [129] K. J. Carpenter, *Biochem. J.* **1960**, *77*, 604–610.
- [130] H. Erbersdobler, H. Zucker, *Milchwissenschaft* **1966**, *21*, 564–568.
- [131] K. Heyns, J. Heukeshoven, K. H. Brose, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 627; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, *7*, 628–629.
- [132] H. Erbersdobler, G. Bock, *Naturwissenschaften* **1967**, *54*, 648.
- [133] P. A. Finot, R. Viani, J. Bricout, J. Mauron, *Experientia* **1969**, *25*, 134–135.
- [134] P. Resmini, L. Pellegrino, G. Battelli, *Ital. J. Food Sci.* **1990**, *3*, 173–183.
- [135] H. M. Schwartz, C. H. Lea, *Biochem. J.* **1952**, *50*, 713–716.
- [136] H. G. Kunkel, G. Wallenius, *Science* **1955**, *122*, 288.
- [137] S. Rahbar, *Clin. Chim. Acta* **1968**, *22*, 296–298.
- [138] H. F. Bunn, D. N. Haney, K. H. Gabbay, P. M. Gallop, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1975**, *67*, 103–109.
- [139] H. F. Bunn, D. N. Haney, K. H. Gabbay, P. M. Gallop, *J. Clin. Invest.* **1976**, *57*, 1652–1659.
- [140] R. J. Koenig, C. M. Peterson, R. L. Jones, C. Saudek, M. Lehrman, A. Cerami, *N. Engl. J. Med.* **1976**, *295*, 417–425.
- [141] Y. Hamada, N. Araki, N. Koh, J. Nakamura, S. Horiuchi, N. Hotta, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *228*, 539–543.
- [142] J. A. Dunn, D. R. McCance, S. R. Thorpe, T. J. Lyons, J. W. Baynes, *Biochemistry* **1991**, *30*, 1205–1210.
- [143] P. J. Thornalley, S. Battah, N. Ahmed, N. Karachalias, S. Agalou, R. Babaei-Jadidi, A. Dawnay, *Biochem. J.* **2003**, *375*, 581–592.
- [144] N. Ahmed, R. Babaei-Jadidi, S. K. Howell, P. J. Beisswenger, P. J. Thornalley, *Diabetologia* **2005**, *48*, 1590–1603.
- [145] H. F. Bunn, P. J. Higgins, *Science* **1981**, *213*, 222–224.
- [146] V. M. Monnier, A. Cerami, *Science* **1981**, *211*, 491–493.
- [147] R. Nagaraj, D. R. Sell, M. Prabhakaram, B. J. Ortwerth, V. M. Monnier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10257–10261.
- [148] A. Cerami, *J. Am. Geriatr. Soc.* **1985**, *33*, 626–634.
- [149] N. G. Watkins, S. R. Thorpe, J. W. Baynes, *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 629–636.
- [150] N. C. Avery, A. J. Bailey, *Pathol. Biol.* **2006**, *54*, 387–395.
- [151] D. Dobler, N. Ahmed, L. Song, K. E. Eboigbodin, P. J. Thornalley, *Diabetes* **2006**, *55*, 1961–1969.
- [152] M. Morcos, H. Hutter, *J. Alzheimer's Dis.* **2009**, *16*, 897–908.
- [153] E. Tsakiri, K. Iliaki, A. Höhn, S. Grimm, I. Papassideri, T. Grune, I. Trougakos, *Free Radical Biol. Med.* **2013**, *65*, 1155–1163.
- [154] M. Brownlee, *Nature* **2001**, *414*, 813–820.
- [155] H. Vlassara, M. Brownlee, A. Cerami, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 5588–5592.
- [156] A. M. Schmidt, M. Vianna, M. Gerlach, J. Brett, J. Ryan, J. Kao, C. Esposito, H. Hegarty, W. Hurley, M. Clauss, F. Wang, Y. C. E. Pan, T. C. Tsang, D. Stern, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 14987–14997.
- [157] A. Bierhaus, P. M. Humpert, M. Morcos, T. Wendt, T. Chavakis, B. Arnold, D. M. Stern, P. P. Nawroth, *J. Mol. Med.* **2005**, *83*, 876–886.
- [158] A. Goldin, J. A. Beckman, A. M. Schmidt, M. A. Craeger, *Circulation* **2006**, *114*, 597–605.
- [159] T. Kislinger, C. Fu, B. Huber, W. Qu, A. Taguchi, S. D. Yan, M. Hofmann, S. F. Yan, M. Pischetsrieder, D. Stern, A. M. Schmidt, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 31740–31749.
- [160] A. Z. Kalea, A. M. Schmidt, B. I. Hudson, *Clin. Sci.* **2009**, *116*, 621–637.
- [161] J. V. Valencia, M. Mone, C. Koehne, J. Rediske, T. E. Hughes, *Diabetologia* **2004**, *47*, 844–852.
- [162] T. Henle, T. Miyata, *Adv. Renal. Repl. Ther.* **2003**, *10*, 321–331.
- [163] R. Vanholder, R. De Smet, G. Glorieux, A. Argiles, U. Baurmeister, P. Brunet, W. Clark, G. Cohen, P. P. De Deyn, R. Deppisch, B. Deschamps-Latscha, T. Henle, A. Jorres, H. D. Lemke, Z. A. Massy, J. Passlick-Deetjen, M. Rodriguez, B. Stegmayr, P. Stenvinkel, C. Tetta, C. Wanner, W. Zidek, *Kidney Int.* **2003**, *63*, 1934–1943.
- [164] C. B. Nilsson-Thorell, N. Muscalu, A. H. G. Andren, P. T. T. Kjellstrand, A. P. Wieslander, *Peritoneal Dial. Int.* **1993**, *13*, 208–213.
- [165] T. Linden, A. Cohen, R. Deppisch, P. Kjellstrand, A. Wieslander, *Kidney Int.* **2002**, *62*, 697–703.
- [166] A. P. Wieslander, R. Deppisch, E. Svensson, G. Forsback, R. Speidel, B. Rippe, *Peritoneal Dial. Int.* **1995**, *15*, 158–164.
- [167] V. M. Monnier, *Arch. Biochem. Biophys.* **2003**, *419*, 1–15.
- [168] M. Brownlee, H. Vlassara, A. Koone, P. Ulrich, A. Cerami, *Science* **1986**, *232*, 1629–1632.
- [169] P. J. Thornalley, *Arch. Biochem. Biophys.* **2003**, *419*, 31–40.
- [170] A. A. Booth, R. G. Khalifah, B. G. Hudson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *220*, 113–119.
- [171] H. Stracke, H. P. Hammes, D. Werkmann, K. Mavrakis, L. Bitsch, M. Netzel, L. Geyer, W. Kopcke, C. Sauerland, R. G. Bretzel, K. F. Federlin, *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* **2001**, *109*, 330–336.
- [172] S. Vasan, X. Zhang, X. Zhang, A. Kapurniotu, J. Bernhagen, S. Teichberg, J. Basgen, D. Wagle, D. Shih, I. Terlecky, R. Bucala, A. Cerami, J. Egan, P. Ulrich, *Nature* **1996**, *382*, 275–278.
- [173] L. Engelen, C. D. A. Stenhouwer, C. G. Schalkwijk, *Diab. Obes. Metab.* **2013**, *15*, 677–689.
- [174] R. Nagai, D. B. Murray, T. O. Metz, J. W. Baynes, *Diabetes* **2012**, *61*, 549–559.
- [175] T. Horiuchi, T. Kurokawa, N. Saito, *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*, 103–110.
- [176] B. S. Szwergold, F. Kappler, T. R. Brown, *Science* **1990**, *247*, 451–454.
- [177] G. Delpierre, M. H. Rider, F. Collard, V. Stroobant, F. Vanstapel, H. Santos, E. van Schaftingen, *Diabetes* **2000**, *49*, 1627–1634.
- [178] B. S. Szwergold, S. Howell, P. J. Beisswenger, *Diabetes* **2001**, *50*, 2139–2147.
- [179] F. Collard, G. Delpierre, V. Stroobant, G. Matthijs, E. van Schaftingen, *Diabetes* **2003**, *52*, 2888–2895.
- [180] R. Shapiro, M. J. McManus, C. Zalut, H. F. Bunn, *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 3120–3127.

- [181] G. Delpierre, D. Vertommen, D. Communi, M. H. Rider, E. van Schaftingen, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 27613–27620.
- [182] E. Krug, W. Prellwitz, E. Schaffner, W. Kiekebusch, K. Lang, *Naturwissenschaften* **1959**, 46, 534.
- [183] H. H. Chelius, W. Hußstedt, E. Ruppin, *Msch. Kinderheilk.* **1976**, 124, 748–750.
- [184] H. Omura, N. Jahan, K. Shinohara, H. Murakami, *ACS Symp. Ser.* **1983**, 215, 537–563.
- [185] M. Jägerstad, K. Skog, S. Grivas, K. Olsson, *Mutat. Res.* **1991**, 259, 219–233.
- [186] R. J. Turesky in *Process-induced food toxicants* (Hrsg.: R. H. Stadler, D. R. Lineback), Wiley, Hoboken, **2009**, S. 75–115.
- [187] Y. J. Surh, A. Liem, J. A. Miller, S. R. Tannenbaum, *Carcinogenesis* **1994**, 15, 2375–2377.
- [188] K. Abraham, R. Görtler, K. Berg, G. Heinemeyer, A. Lampen, K. E. Appel, *Mol. Nutr. Food Res.* **2011**, 55, 667–678.
- [189] L. Hagmar, M. Tornqvist, C. Nordander, I. Rosen, M. Bruze, A. Kautiainen, A. L. Magnusson, B. Malmberg, P. Aprea, F. Granath, A. Axmon, *Scand. J. Work Environ. Health* **2001**, 27, 219–226.
- [190] E. Tareke, P. Rydberg, P. Karlsson, S. Eriksson, M. Törnqvist, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 4998–5006.
- [191] D. S. Mottram, B. L. Wedzicha, A. T. Dodson, *Nature* **2002**, 419, 448–449.
- [192] R. H. Stadler, I. Blank, N. Varga, F. Robert, J. Hau, P. A. Guy, M.-C. Robert, S. Riediker, *Nature* **2002**, 419, 449–450.
- [193] R. H. Stadler, F. Robert, S. Riediker, N. Varga, T. Davidek, S. Devaud, T. Goldmann, J. Hau, I. Blank, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 5550–5558.
- [194] P. Y. Nikolov, V. A. Yaylayan, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 4456–4462.
- [195] M. Friedman, C. E. Levin, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 6113–6140.
- [196] L. Lipworth, J. S. Sonderman, R. E. Tarone, J. K. McLaughlin, *Eur. J. Cancer Prev.* **2012**, 21, 375–386; J. Hogervorst, E. Duell, L. Schouten, N. Slimani, P. van den Brandt, *Eur. J. Cancer Prev.* **2013**, 22, 194–198.
- [197] T. Koschinsky, C. J. He, T. Mitsuhashi, R. Bucala, C. Liu, C. Bünting, K. Heitmann, H. Vlassara, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 6474–6479.
- [198] W. J. Cai, J. C. He, L. Zhu, X. Chen, F. Zheng, G. E. Striker, H. Vlassara, *Am. J. Pathol.* **2008**, 173, 327–336.
- [199] T. Buetler, T. Henle, *Am. J. Pathol.* **2009**, 174, 351–353.
- [200] S. B. Schwedler, T. Metzger, R. Schinzel, C. Wanner, *Kidney Int.* **2002**, 62, 301–310.
- [201] M. Busch, S. Franke, G. Wolf, A. Brandstätter, U. Ott, J. Gerth, L. G. Hunsicker, G. Stein, *Am. J. Kidney Dis.* **2006**, 48, 571–579.
- [202] N. V. Chuyen, H. Arai, T. Nakanishi, N. Utsunomiya, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, 1043, 467–473.
- [203] N. J. Kellow, G. S. Savage, *Eur. J. Clin. Nutr.* **2013**, 67, 239–248.
- [204] P. A. Finot, E. Magnenat, *Prog. Food Nutr. Sci.* **1981**, 5, 193–207.
- [205] P. A. Finot, E. Bujard, F. Mottu, J. Mauron, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1977**, 86B, 343–365.
- [206] K. Lee, H. F. Erbersdobler in *Maillard reactions in chemistry, food, and health* (Hrsg.: T. P. Labuza et al.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1994**, S. 358–363.
- [207] A. Förster, Y. Kühne, T. Henle, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, 1043, 474–481.
- [208] V. Schwenger, C. Morath, K. Schönfelder, W. Klein, K. Weigel, R. Deppisch, T. Henle, E. Ritz, M. Zeier, *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**, 21, 383–388.
- [209] C. Delgado-Andrade, I. Seiquer, M. P. Navarro, F. J. Morales, *Food Chem. Toxicol.* **2008**, 46, 1600–1607.
- [210] I. Alamir, C. Niquet-Leridon, P. Jacolot, C. Rodriguez, M. Orosco, P. M. Anton, F. J. Tessier, *Amino Acids* **2013**, 44, 1441–1449.
- [211] M. Hellwig, S. Geißler, R. Matthes, A. Peto, C. Silow, M. Brandsch, T. Henle, *ChemBioChem* **2011**, 12, 1270–1279.
- [212] H. F. Erbersdobler, I. Gunsser, G. Weber, *Zentralbl. Veterinarmed. Reihe A* **1970**, 17, 573–575.
- [213] E. Wiame, G. Delpierre, F. Collard, E. van Schaftingen, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 42523–42529.
- [214] R. Sutton, G. Sposito, *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39, 9009–9015.
- [215] T. Henle, *Mol. Nutr. Food Res.* **2007**, 51, 1075–1078.
- [216] M. van Boekel, V. Fogliano, N. Pellegrini, C. Stanton, G. Scholz, S. Lalljie, V. Somoza, D. Knorr, P. R. Jasti, G. Eisenbrand, *Mol. Nutr. Food Res.* **2010**, 54, 1215–1247.
- [217] J. M. Ames, A. Wynne, A. Hofmann, S. Plos, G. R. Gibson, *Br. J. Nutr.* **1999**, 82, 489–495.
- [218] P. Vitaglione, V. Fogliano, N. Pellegrini, *Food Funct.* **2012**, 3, 916–922.
- [219] V. Somoza, E. Wenzel, M. Lindenmeier, D. Grothe, H. F. Erbersdobler, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 8176–8182.
- [220] D. Marko, M. Habermeyer, M. Kemény, U. Weyand, E. Niederberger, O. Frank, T. Hofmann, *Chem. Res. Toxicol.* **2003**, 16, 48–55.
- [221] D. Marko, M. Kemény, E. Bernady, M. Habermeyer, U. Weyand, S. Meiers, F. Frank, T. Hofmann, *Food Chem. Toxicol.* **2002**, 40, 9–18.
- [222] L. De Marco, S. Fischer, T. Henle, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, 59, 11417–11423.
- [223] F. Berna, P. Goldberg, L. K. Horwitz, J. Brink, S. Holt, M. Bamford, M. Chazan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, 109, E1215–E1220.