

Untersuchungen zur *Maillard*-Reaktion, VII¹⁾

Bildung von β -Carbolin-Derivaten bei der Umsetzung von Tryptamin mit Xylose und Glucose

Theodor Severin* und Karl-Heinz Bräutigam

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

Eingegangen am 22. Mai 1973

Tryptamin und Xylose reagieren in neutraler wäßriger Lösung bei 160°C unter Bildung von 1-(2-Furyl)- β -carbolin (**4**) und 6,7-Dihydro-12*H*-indolo[2,3-*a*]chinolizin-5-iun-1-olat (**3**). Das gleiche Pyridiniumbetain sowie 1-Acetyl- β -carbolin (**15**) entstehen bei der Umsetzung von Tryptamin mit Glucose.

Studies on the *Maillard* Reaction, VII¹⁾

Formation of β -Carbolin Derivatives by Reaction of Tryptamine with Xylose and Glucose
1-(2-Furyl)- β -carboline (**4**) and 6,7-dihydro-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizin-5-iun-1-olate (**3**) are obtained when tryptamine and xylose react in a neutral aqueous solution at 160°C. The same pyridiniumbetaine as well as 1-acetyl- β -carboline (**15**) are formed from tryptamine and glucose.

Die meisten natürlichen Aminosäuren sind thermisch recht stabile Verbindungen. Erst bei Temperaturen oberhalb von etwa 160—180°C erfolgt Decarboxylierung und Bildung von Dioxopiperazinen. Auch Zucker zersetzen sich in Substanz oder in Lösung bis 150°C nur langsam. Erhitzt man dagegen einen reduzierenden Zucker mit einer Aminosäure in wäßriger Lösung, so tritt auch unterhalb von 100°C rasch Bräunung ein (*Maillard*-Reaktion). Derartige Umsetzungen führen zu komplexen Mischungen, die niedermolekulare und höhermolekulare Verbindungen enthalten²⁾. Die beim Erhitzen von Lebensmitteln auftretenden Bräunungen und Röstaromen sind zum großen Teil auf Reaktionen von Zuckern mit Aminosäuren bzw. Proteinen zurückzuführen.

Bei Einwirkung von Aminosäuren auf Glucose bilden sich zunächst Glucosylaminosäuren. Diese lagern sich leicht in entsprechend *N*-substituierte 1-Amino-1-desoxyfructosen um²⁾. Folgereaktionen führen u. a. zur Bildung reaktionsfähiger Carbonylverbindungen. Über die Strukturen der farbigen Produkte ist jedoch noch wenig bekannt.

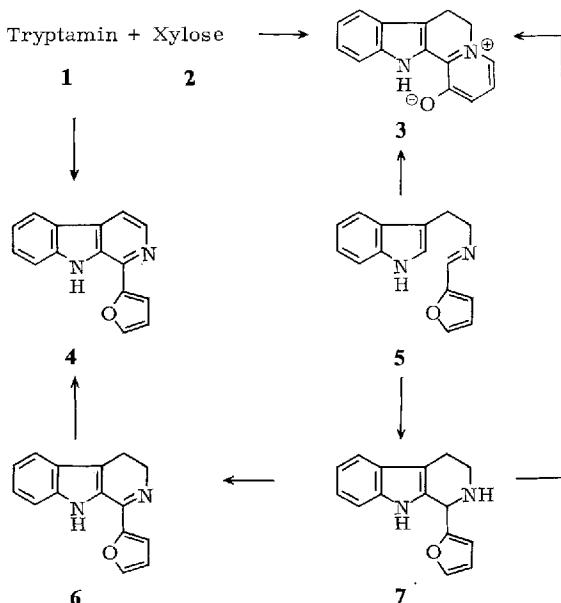
Nach diesem Schema reagieren die einzelnen Aminosäuren unabhängig von der Art ihrer Seitenkette weitgehend gleich. Einige Aminosäuren besitzen jedoch Seitenketten, die von Zuckern bzw. Zuckerumwandlungsprodukten angegriffen werden

¹⁾ VI. Mitteil.: Th. Severin und U. Krönig, Z. Lebensm.-Unter. Forsch., im Druck.

²⁾ T. M. Reynolds, Advan. Food Res. **12**, 1 (1963); **14**, 167 (1965).

können. Hierzu gehören in erster Linie Tryptophan und Tyrosin. Um Einblick in mögliche Reaktionsabläufe zu erhalten, haben wir zunächst Tryptamin mit Aldosen umgesetzt.

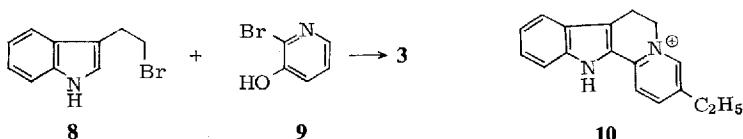
Erhitzt man Tryptamin (1 mol) und Xylose (2 mol) in mit Essigsäure neutralisierter wäßriger Lösung zwei Stunden auf 160°C, so erhält man eine dunkelbraune sauer reagierende Lösung, die schwarzbraune feste Bestandteile enthält. Mit Methylenchlorid läßt sich eine Reihe von Produkten extrahieren. Macht man anschließend alkalisch, so gehen weitere Verbindungen in die organische Phase über. Der saure Extrakt enthält als Hauptprodukt eine gelbe Verbindung, die durch Chromatographie auf Kieselgel und Vakuumsublimation abgetrennt werden kann. Elementaranalyse und Massenspektrum ergeben die Summenformel C₁₅H₁₂N₂O. Aus den Spektren und einer unabhängigen Synthese folgt, daß das Pyridiniumbetain **3** vorliegt.



Das IR-Spektrum zeigt eine breite Bande bei 3300 cm⁻¹, die einer assoziierten NH- oder OH-Gruppe zuzuordnen ist. Aus der Abwesenheit ausgeprägter Banden im Bereich von 1580—1800 cm⁻¹ folgt, daß der Sauerstoff nicht als Carbonylfunktion vorliegt. Im NMR-Spektrum³⁾ erkennt man die beiden benachbarten Methylengruppen als Triplets bei τ 6.73 und 5.53 ($J = 7.0$ Hz). Die Signalgruppe von τ 2.40 bis 3.11 weist der Flächenintegration nach auf sieben aromatische Protonen hin. Das Massenspektrum ist schwer zu interpretieren; es gibt jedoch einen eindeutigen Molekülpeak bei m/e 236.

3 ist aus 3-(2-Bromäthyl)indol (**8**) und 2-Brom-3-hydroxypyridin (**9**) direkt darstellbar. Erhitzt man die Komponenten in Äthanol, so erhält man **3** in hoher Ausbeute.

³⁾ In CDCl₃, Tetramethylsilan als innerer Standard.

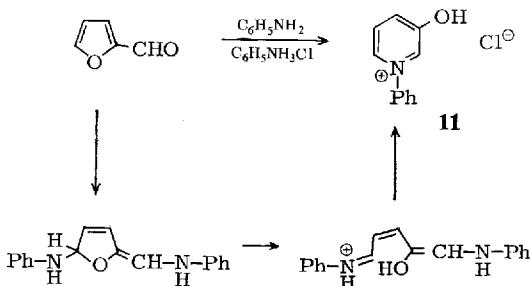


Auf ähnliche Weise haben schon früher *Ban* und *Seo*⁴⁾ Dihydroflavopereirin (**10**) aus **8** und 5-Äthyl-2-halogenpyridin dargestellt. Die dabei angewandten Bedingungen, wie Erhitzen in Benzol mit Aluminiumchlorid als Katalysator, führten bei der Umsetzung von **8** mit **9** allerdings nicht zum Erfolg. Erst in dem protischen Lösungsmittel Äthanol gelang die gewünschte Reaktion.

Als weiteres Produkt der Umsetzung von Tryptamin mit Xylose ist 1-(2-Furyl)-β-carbolin (**4**) isolierbar. Schon früher hatte *Heidenhain* aus Tryptamin und Furfurol über die Schiffssche Base **5** das 1-(2-Furyl)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin (**7**) dargestellt⁵⁾. Diese Verbindung lässt sich mit Quecksilber(II)-acetat zum 1-(2-Furyl)-3,4-dihydro-β-carbolin (**6**) dehydrieren. Sowohl **6** als auch **7** ergeben beim Erhitzen mit Palladium auf Kohle das vollaromatische **4**.

Im NMR-Spektrum³⁾ von **6** erkennt man die beiden benachbarten Methylengruppen als Triplets zentriert bei τ 5.92 und 7.09 ($J = 8.0$ Hz). Diese Signale treten im Spektrum³⁾ von **4** nicht mehr auf; dafür erscheinen zwei Doublets bei τ 1.63 und 2.26 ($J = 5.0$ Hz), die den Protonen am Pyridinring zuzuordnen sind. Das mittlere Proton am Furanring von **6** ergibt ein doppeltes Dublett bei τ 3.50 ($J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz). Es erscheint damit bei wesentlich höherem Feld als die übrigen aromatischen Protonen. Diese Lage wie auch die Kopplungskonstanten sind für einen Furanring typisch. Entsprechend ergibt **4** ein doppeltes Dublett bei τ 3.41 ($J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz).

Erhitzt man die Schiffssche Base **5** oder das 1-Furyltetrahydro-β-carbolin **7** in wässriger Lösung auf 160°C, so bildet sich wieder das Pyridiniumiumion **3**. Eine ähnliche Reaktion ist lange bekannt. Schon *Zincke* und *Mühlhausen* berichteten über die Synthese von 3-Hydroxy-1-phenylpyridiniumchlorid (**11**) aus Anilin, Anilinhydrochlorid und Furfurol⁶⁾. Nach Untersuchungen von *Foley* und Mitarbeitern erfolgt die Öffnung des Furanringes durch Addition eines mols Anilin an die primär gebildete Schiffssche Base⁷⁾.



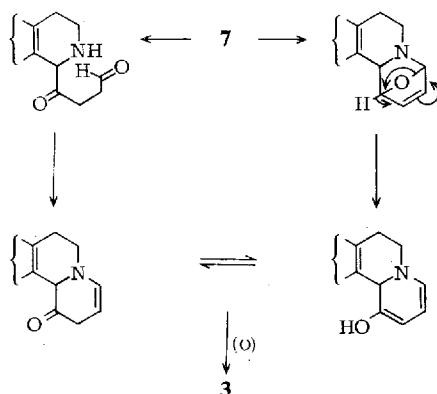
4) *Y. Ban und M. Seo*, Tetrahedron **16**, 5 (1961).

5) *B. Heidenhain*, Dissertation, Univ. Marburg/Lahn 1966; *Th. Severin und B. Heidenhain*, Z. Lebensm.-Unter. Forsch. **132**, 65 (1966).

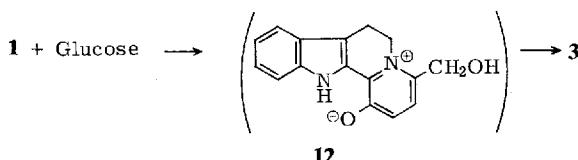
6) *Th. Zincke und G. Mühlhausen*, Ber. Deut. Chem. Ges. **38**, 3824 (1905).

7) *W. M. Foley jr., G. E. Sanford und H. McKennis jr.*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 5489 (1952).

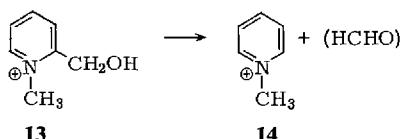
Man kann daher annehmen, daß die Bildung von **3** aus Tryptamin und Xylose über **5** und **7** verläuft. Allerdings ist ein zusätzlicher Oxidationsschritt notwendig. Im Formelschema sind zwei Wege angegeben, auf denen sich **7** in das Pyridiniumbetain umwandeln könnte. Die vorliegenden experimentellen Ergebnisse erlauben jedoch keine ganz eindeutige Aussage über den Reaktionsweg.



Wir haben auch Glucose unter den gleichen Bedingungen wie Xylose, d. h. in neutraler wäßriger Lösung bei 160°C mit Tryptamin umgesetzt. Dabei isolierten wir nicht die erwartete Verbindung **12** mit einer Hydroxymethyl-Seitenkette, sondern wieder das auch mit Xylose erhaltene Pyridiniumbetain **3**.



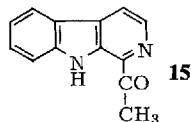
Dieser Befund wird verständlich durch eine Beobachtung von Golding und Katritzky⁸⁾, wonach 2-Hydroxymethyl-1-methylpyridiniumjodid (**13**) in natriumcarbonat-haltiger Lösung beim Erhitzen Formaldehyd abspaltet und so in das 1-Methylpyridinium-Kation **14** (bzw. die entsprechende Pseudobase) übergeht.



Als weiteres Reaktionsprodukt der Umsetzung mit Glucose konnte 1-Acetyl-β-carbolin (**15**) isoliert werden. Aus Elementaranalyse und Massenspektrum ergibt sich die Bruttoformel C₁₃H₁₀N₂O. Das Massenspektrum liefert Anhaltspunkte für eine

⁸⁾ S. Golding und A. R. Katritzky, Can. J. Chem. **43**, 1250 (1965).

aromatische Carbolinstruktur, da nach Abspaltung der Acetylgruppe als Ketenbruchstück das stabile Radikalkation mit m/e 168 entsteht. Die weitere Fragmentierung erfolgt wie beim β -Carbolin. MS (70 eV) von **15**: $m/e = 210$ (92%, M^+), 168 (100%), 167 (70%), 141 (24%), 140 (74%), 115 (28%). MS (70 eV) von β -Carbolin: $m/e = 168$ (100%, M^+), 167 (37%), 141 (42%), 140 (44%), 115 (43%).



Im IR-Spektrum von **15** erscheint die Carbonylgruppe als starke Bande bei 1675 cm^{-1} . Im NMR-Spektrum³⁾ findet man die Methylgruppe als Singulett bei τ 7.10. Die beiden Dubletts bei τ 1.40 und 1.80 ($J = 5.0\text{ Hz}$) lassen sich den beiden Protonen des Pyridinringes zuordnen.

Die Ergebnisse zeigen, daß Tryptamin mit Zuckern bzw. Zuckerumwandlungsprodukten unter Bildung von Derivaten des β -Carbolins reagieren kann. Über Umsetzungen von Tryptophan mit Aldosen werden wir gesondert berichten.

Experimenteller Teil

Umsetzung von Tryptamin (1) mit Xylose (2): Eine Lösung von 0.5 g **1**, 0.2 ml Essigsäure und 1.0 g **2** in 20 ml Wasser wird im Bombenrohr 3 h auf 160°C erhitzt. Man schüttelt mit Methylenchlorid aus (Extrakt A), macht die wäßr. Phase alkalisch und schüttelt erneut aus (Extrakt B). Durch Einengen i. Vak. erhält man die abgetrennten Substanzgemische in Form brauner Öle.

6,7-Dihydro-12H-indolo[2,3-a]chinolin-5-iun-1-olat (3)

1) Extrakt A der Umsetzung von Tryptamin mit Xylose wird auf einer Kieselgelplatte für PSC (Merck F₂₅₄, Schichtdicke 2 mm, im folgenden PSC-Platte genannt) mit dem Fließmittel Aceton/Chloroform/25% Ammoniak (60:20:10; organische Phase) chromatographiert. Eine leuchtend gelbe Zone im unteren Drittel der Platte wird mit Methylenchlorid extrahiert. Auf diese Weise erhält man ein stark verunreinigtes gelbes Öl. Die Reinigung auf PSC-Platten muß so lange wiederholt werden, bis die Substanz dünnenschichtchromatographisch einheitlich ist. Durch Sublimation bei 0.1 Torr und 180°C erhält man eine analysenreine gelbe, z. T. kristalline feste Substanz. Schmp. 230°C (Zers.), Rohausb. 3% (bez. auf Tryptamin).

IR (KBr)⁹⁾: 3300 (OH), 1580, 1565, 1480, 1360, 1330, 1305, 1230, 730 cm^{-1} . — UV (Äthanoll): λ_{max} (log ϵ) = 220 (3.8), 304 (3.4), 435 nm (3.2). — ¹H-NMR (CDCl_3)³⁾: τ = 6.73 (t, $J = 7.0\text{ Hz}$, CH_2), 5.53 (t, $J = 7.0\text{ Hz}$, CH_2), Signalgruppe von 2.40 bis 3.11, —1.2 (s, NH). — MS (70 eV): $m/e = 236$ (100%, M^+), 235 (85%), 221 (23%), 219 (15%), 207 (17%), 206 (27%), 205 (14%), 180 (10%), 167 (8%), 154 (8%), 143 (10%), 140 (11%), 125 (14%), 118 (32%), 115 (19%), 103 (19%).

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ (236.2) Ber. C 76.26 H 5.11 N 11.85
Gef. C 75.96 H 5.19 N 11.65

aus 9: Gef. C 76.15 H 5.13 N 11.68

⁹⁾ In den IR-Spektren sind neben den leicht zuzuordnenden mindestens vier weitere starke Banden angegeben.

2) 174 mg 2-Brom-3-hydroxypyridin (**9**)¹⁰⁾ und 448 mg 3-(2-Bromäthyl)indol (**8**)¹¹⁾ werden in 1.5 ml Äthanol 48 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die so erhaltene gelbe Lösung wird auf eine Kieselgel-PSC-Platte aufgetragen. Entwicklung und Isolierung wie bei 1) liefert in 70 proz. Ausb. eine mit der nach 1) erhaltenen identische Substanz (IR, UV, NMR, MS). 3) 0.3 g Furfurylidentryptamin (**5**)⁵⁾ oder 0.3 g 1-(2-Furyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (**7**)⁵⁾ werden mit 10 ml Wasser 3 h im Bombenrohr auf 160°C erhitzt. Isolierung und Spektren wie bei 1). Ausb. 5 bzw. 10%.

1-(2-Furyl)- β -carbolin (4)

1) Extrakt B der Umsetzung von Tryptamin mit Xylose wird an Kieselgel (PSC-Platten) mit dem Fließmittel Methanol/Aceton (2:8) chromatographiert. Unterhalb der Fließmittelfront liegt eine im Licht der Wellenlänge 350 nm blau fluoreszierende Zone, die mit Methylenechlorid extrahiert wird. Beim Eindampfen i. Vak. erhält man farblose Kristalle, die durch Sublimation bei 0.1 Torr und 140°C gereinigt werden. Schmp. 184°C, Ausb. 2% (bez. auf Tryptamin).

IR (KBr)⁹⁾: 3470 (NH), 1630, 1500, 1310, 1005, 760 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃)³⁾: τ = 3.41 (dd, J = 1.8 Hz/3.6 Hz, CH), Signalgruppe von 1.83 bis 2.96, 2.26 (d, J = 5.0 Hz, CH), 1.63 (d, J = 5.0 Hz, CH). — MS (70 eV): *m/e* = 234 (100%, M⁺), 206 (30%), 205 (60%), 178 (10%), 177 (10%), 151 (8%), 150 (9%), 140 (9%), 117 (7%), 103 (8%).

C₁₅H₁₀N₂O (234.2) Ber. C 76.91 H 4.30 N 11.95 Gef. C 76.78 H 4.40 N 11.72

2) 50 mg **6** oder 50 mg **7** werden mit 50 mg Palladium auf Aktivkohle 6 h in Xylool unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen filtriert man vom Katalysator ab und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Der Rückstand wird mit Methylenechlorid aufgenommen und so lange filtriert, bis die Lösung von Kohlepunkten frei ist. Man engt i. Vak. ein und kristallisiert aus Essigester, Ausb. 40%, Spektren wie unter 1).

1-(2-Furyl)-3,4-dihydro- β -carbolin (6): 100 mg **7**⁵⁾ werden zu einer heißen Lösung von 75 mg Quecksilber(II)-acetat und 80 mg Äthylendiamintetraessigsäure (Dinatriumsalz) in 5 ml 1 proz. Essigsäure gegeben. Unter Einleiten von Stickstoff erhitzt man 1 h auf dem Wasserbad. Dann wird abgekühlt und das ausgeschiedene Quecksilber abfiltriert. Aus dem gelben Filtrat extrahiert man **6** mit Methylenechlorid. Das nach dem Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene Öl wird an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittel Aceton/Chloroform/25% Ammoniak (60:20:10; organ. Phase) chromatographiert. Unterhalb der Fließmittelfront erscheint eine gelbe Zone, die mit Methylenechlorid eluiert wird. Sublimation bei 0.1 Torr und 100°C gibt analysenreines **6**, Schmp. 55°C, Ausb. 20%.

IR (KBr)⁹⁾: 1590, 1540, 1290, 740 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃)³⁾: τ = 7.09 (t, J = 8.0 Hz, CH₂), 5.92 (t, J = 8.0 Hz, CH₂), 3.50 (dd, J = 1.8 Hz/3.6 Hz, CH), Signalgruppe von 2.30 bis 2.60. — MS (70 eV): *m/e* = 236 (100%, M⁺), 235 (72%), 207 (49%), 206 (29%), 180 (26%), 152 (11%), 143 (7%), 128 (8%), 103 (14%).

C₁₅H₁₂N₂O (236.2) Ber. C 76.26 H 5.11 N 11.85 Gef. C 76.09 H 5.12 N 11.51

Umsetzung von Tryptamin mit Glucose: Tryptamin (1 mol), Glucose (2 mol) und Essigsäure (1 mol) werden in wäßr. Lösung im Bombenrohr 3 h auf 160°C erhitzt. Anschließend filtriert man von schwarzbraunen festen Anteilen ab und extrahiert das Filtrat mit Methylenechlorid.

Isolierung von 3: Der Extrakt wird an Kieselgel (PSC-Platte) chromatographiert; Reinigung und Spektren wie bei der Umsetzung mit Xylose; Ausb. 2% (bez. auf Tryptamin).

C₁₅H₁₂N₂O (236.2) Ber. C 76.26 H 5.11 N 11.85 Gef. C 75.95 H 5.08 N 11.60

¹⁰⁾ K. Lewicka und E. Plazeck, Roczn. Chem. **40**, 405 (1966) [C. A. **65**, 7134 h (1966)].

¹¹⁾ T. Hoshino und K. Shimodaira, Liebigs Ann. Chem. **520**, 19 (1935).

I-Acetyl-β-carbolin (**15**): Der bei der Umsetzung von Tryptamin mit Glucose gebildete braune feste Rückstand wird abfiltriert, getrocknet, pulverisiert und mit Methylenchlorid extrahiert. Nach Einengen i. Vak. erhält man ein dunkelbraunes Öl, das bei 0.1 Torr und 150°C sublimiert wird. Dabei gehen Kristalle und geringe Mengen Öl über, Schmp. 216°C (aus Äthanol), Ausb. 2% (bez. auf Tryptamin).

IR (KBr)⁹⁾: 3340 (NH), 1670 (CO), 1495, 1210, 1170, 750 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃)³⁾: $\tau = 7.10$ (s, CH₃), Signalgruppe von 2.40 bis 2.72, 1.80 (d, $J = 5.0$ Hz, CH), 1.40 (d, $J = 5.0$ Hz, CH), —0.60 (s, NH). — MS (70 eV): $m/e = 210$ (92 %, M⁺), 168 (100 %), 167 (70 %), 141 (24 %), 140 (74 %), 115 (28 %).

C₁₃H₁₀N₂O (210.1) Ber. C 74.25 H 4.79 N 13.33 Gef. C 74.00 H 4.87 N 12.94

[204/73]