

СТРУКТУРА ПРОДУКТОВ ДЕСТРУКЦИИ АЛЬДОГЕКСОЗ В ЭТАНОЛЬНОЙ СРЕДЕ В ПРИСУТСТВИИ АРИЛАМИНОВ

¹ЧЕРЕПАНОВ И. С., ²ТРУБАЧЕВ А. В., ¹АБДУЛЛИНА Г. М.

¹Удмуртский государственный университет, 426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1

²Удмуртский научный центр УрО РАН, 426067, г. Ижевск, ул. Т. Барамзиной, 34

АННОТАЦИЯ. Изучены особенности строения продуктов термодеструкции *D*-глюкозы в присутствии *n*-толуидина и *n*-аминобензойной кислоты в кислотных этанольных средах. Установлено, что в системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин преобладающими структурными элементами продуктов являются пятичленные кислородсодержащие гетероциклы, образующиеся в результате кислотно-каталитической конденсации низкомолекулярных продуктов фуранового ряда, при этом содержание фрагментов ариламина незначительно. Для систем с *n*-аминобензойной кислотой отмечено более высокое содержание ариламинокompонента, при этом структура «браун»-продуктов в двух типах изученных систем отлична, вероятно, вследствие различия механизмов деструкции углеводов и их конъюгатов на начальных стадиях. Показано практически полное отсутствие углеводных остатков в составе конечных продуктов в обоих типах систем, что может свидетельствовать о прямой конденсации при формировании структуры.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *D*-глюкоза, *n*-толуидин, *n*-аминобензойная кислота, ИК-спектроскопия, этанольная среда.

ВВЕДЕНИЕ

Строение конечных продуктов реакции Майяра остается главной проблемой изучения процессов неферментативного окрашивания в углевод-аминных системах, поскольку достоверно доказана связь строения меланоидинов с широким спектром их биологически важных свойств, в частности, антимикробной, антиоксидантной и антикоагулянтной активностью; последние свойства отмечаются и для продуктов реакций с участием ариламинов [1], при этом структура «браун»-полимеров в подобных системах практически не исследована.

За несколько последних десятилетий возникли некоторые новые представления о характере формирования структуры продуктов «браун»-реакций на завершающих стадиях, тем не менее, влияние значительного числа внешних и внутренних факторов, оказывающих влияние на направление протекания и механизмы процессов, предполагает существенные различия в структуре конечных продуктов.

Данные о характере протекания «браун»-реакций в кислых спиртовых средах немногочисленны; в одном из первых систематических исследований [2] описаны некоторые закономерности протекания процессов, отмечено образование 5-гидроксиметилфурфуrolа как одного из основных интермедиатов в реакции, но сведения о структуре конечных продуктов не приводятся. В более поздних работах [3, 4] проводится детальный анализ низкомолекулярных продуктов промежуточных стадий реакции Майяра, в частности, отмечается образование в кислых водно-этанольных средах наряду с гидроксиметилфурфуrolом значительных количеств фурилового спирта, но механизм его образования, а также структура высокомолекулярных продуктов авторами не описаны.

В настоящей работе представлены результаты изучения природы продуктов «браун»-реакций в системах *D*-глюкоза – *n*-толуидин и *D*-глюкоза – *n*-аминобензойная кислота в кислых этанольных средах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовались реагенты марки «ч.д.а.», синтез меланоидиновых продуктов осуществлялся нагреванием исходных реагентов (0,001 моль, 80 °С) в кислотном водно-этанольном растворе (96 % EtOH, 25 мл; AcOH_{лед}, 0,5 мл) в колбах с обратным холодильником, по окончании термостатирования избыток растворителя удалялся, продукты дважды промывались эфиром и высушивались. Контроль за ходом реакции выполнялся методами УФ-спектрофотометрии и ТСХ. Электронные спектры разбавленных проб (1:25) снимались в кварцевых кюветах ($l = 1$ см) на спектрофотометре СФ-2000, динамика формирования меланоидинов оценивалась по поглощению в области длин волн 400 – 430 нм. Тонкослойная хроматография проводилась на пластинках Silufol в элюентной системе бутанол–этанол–вода (5:2:1) с проявлением в иодной камере. ИК-спектры снимались на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-2201 в таблетках бромида калия (1:200), дополнительно выполнялся элементный анализ продуктов (элементный анализатор «Vario MICRO Cube»). Гидролиз твердых продуктов проводился в водном растворе 1М HCl при комнатной температуре и при кипячении в течение часа, после чего растворы подвергались диализу в течение 24 и 48 часов, после чего фотометрировались.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Характер ИК-спектров, регистрируемых для окрашенных конечных продуктов системы *D*-глюкоза – *n*-толуидин, показывает наличие фурановых гетероциклов в структуре (рис. 1).

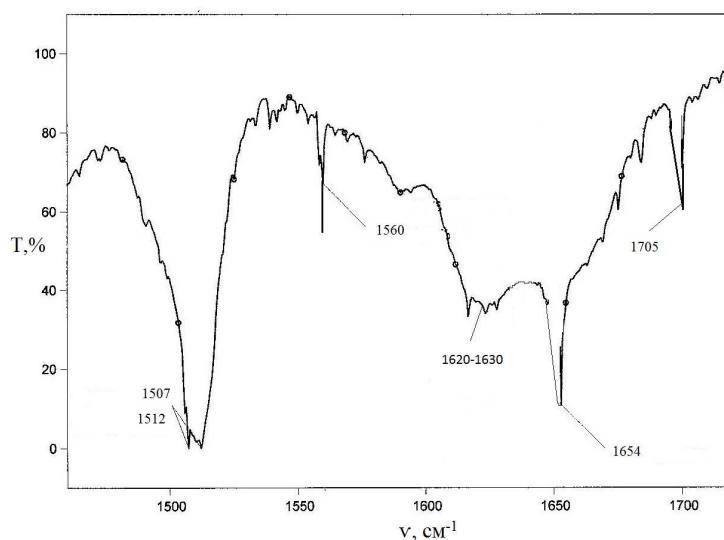
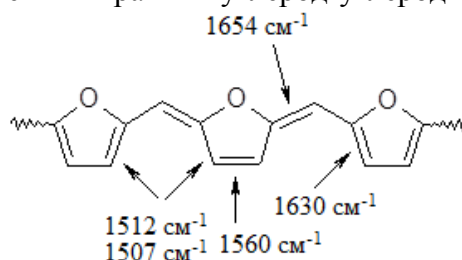


Рис. 1. Фрагмент ИК-спектра конечного продукта «браун»-реакции в системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин в области «кратных связей» (КВг, 1:200)

Полосы в области кратных связей отчетливо характеризуют структуру олиго(поли)фуранов: сильная полоса в области 1500 – 1510 cm^{-1} , отвечающая колебаниям фуранового цикла, а также несколько более слабых полос, в частности 1560, 1630, 1654 cm^{-1} , отвечающие различным положениям кратных углерод-углеродных связей [5]:



Относительно слабая полоса при 1710 см^{-1} может быть отнесена к 1,4-дикетонным группам, которые могут образоваться при кислотно-каталитическом раскрытии фуранового цикла [5, 6]. Кроме того, в ИК-спектрах фиксируются колебательные полосы, относимые традиционно к метиленовым фрагментам ($1460, 2920\text{ см}^{-1}$) [6].

В области «отпечатков пальцев» (рис. 2) также можно наблюдать ряд полос, отражающих структурные особенности замещенных фуранов, в частности характеристические для фуранов полосы $1030, 1130\text{ см}^{-1}$ (C-O-C), а также полосы в области внеплоскостных деформационных колебаний ($600 - 950\text{ см}^{-1}$).

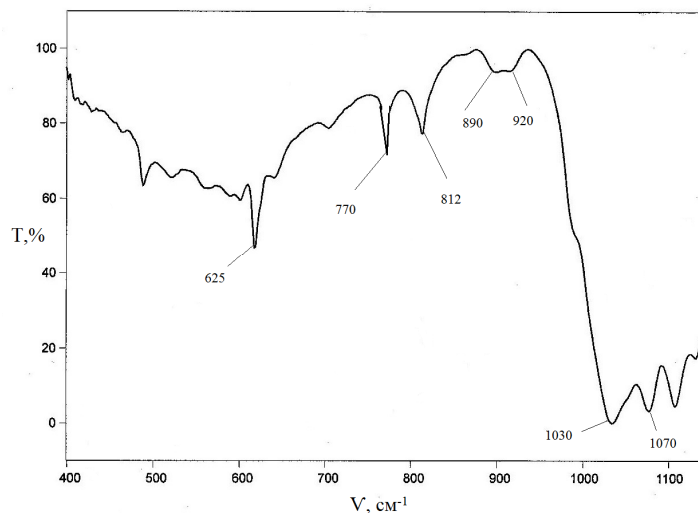


Рис. 2. Фрагмент ИК-спектра конечного продукта «браун»-реакции в системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин в области «отпечатков пальцев» (КВг, 1:200)

Ранее авторами [7] было показано, что структура «браун»-полимеров может включать различной степени связанности остатки углеводов, наличие которых может быть установлено различными методами [8]. Изучение растворов, полученных фракционированием водных растворов «браун»-продуктов после кислотного гидролиза, показывает независимо от температурного режима полосы непрерывного поглощения для недиализованных гидролизатов (рис. 3, 4, кривая 1), характерные для высокомолекулярных «браун»-продуктов. В спектрах диализатов регистрируются четкие максимумы поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 280 - 285\text{ нм}$, характерные для низкомолекулярного производного фурфурола (рис. 3, 4, кривые 2, 3), при этом полосы, характерные для *n*-толуидина, не обнаружены [9].

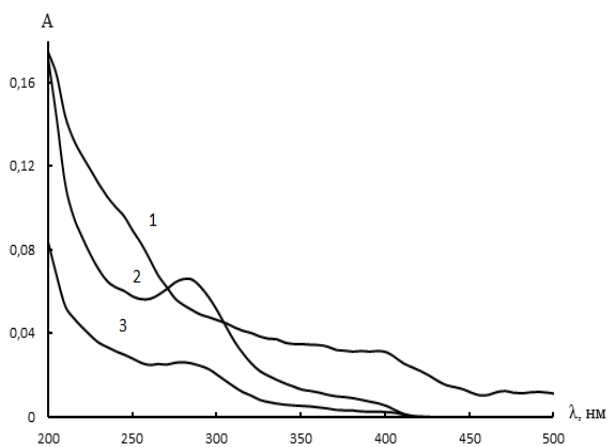


Рис. 3. Спектры поглощения гидролизатов «браун»-продуктов при $t=25\text{ °C}$:
1 – недиализованный раствор;
2 – диализ в течение 24 часов;
3 – диализ в течение 48 часов

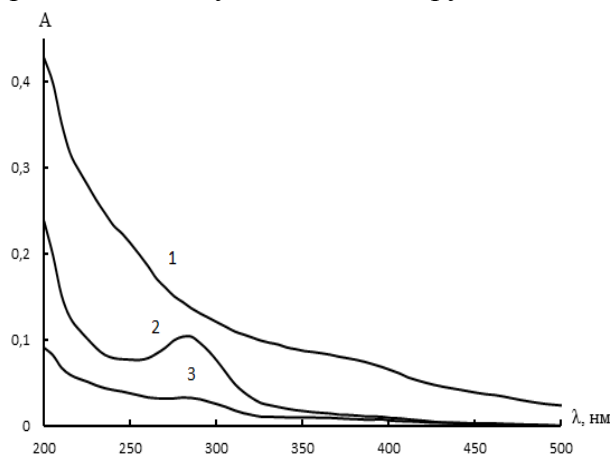
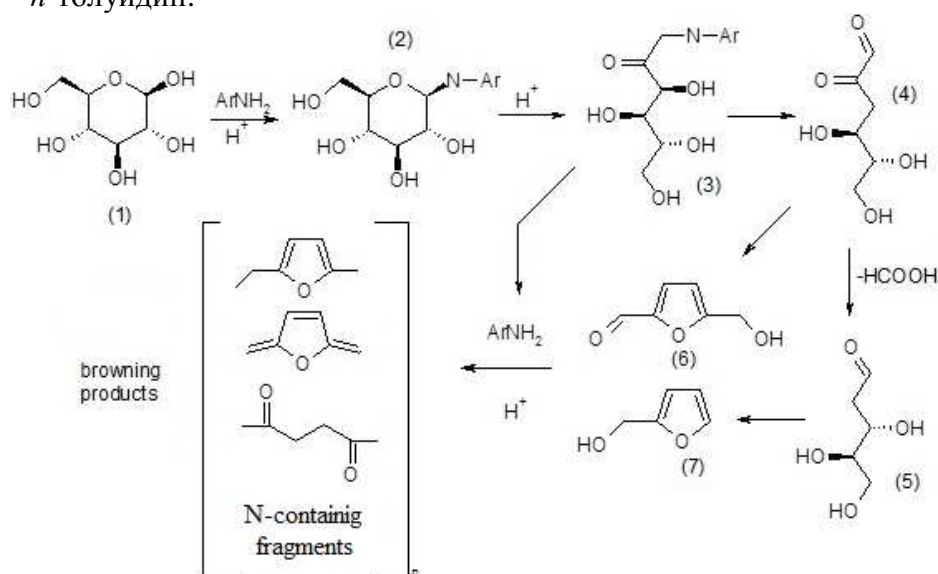


Рис. 4. Спектры поглощения гидролизатов «браун»-продуктов при $t=90\text{ °C}$:
1 – недиализованный раствор;
2 – диализ в течение 24 часов;
3 – диализ в течение 48 часов

На основании полученных данных можно представить общую схему совокупности процессов образования продуктов реакции неферментативного окрашивания в системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин:



D-глюкоза (1) быстро взаимодействует с ариламином с образованием *N*-гликозиламина (2), который неустойчив в условиях реакции и претерпевает перегруппировку Амадори, продукт последней (3) деградирует с элиминированием амина до 3-дезоксиглюкозона (4) [10] и 5-гидроксиметилфурфуrolа (6). Возможность образования фурилового спирта (7) может быть объяснена 1,2-дикарбонильным распадом (4) → (5) с последующей циклизацией 2-дезоксипентозона (5) [11]. Окрашенные продукты образуются на конечных стадиях в результате прямой конденсации гетероциклических интермедиатов, при этом можно предположить, что в состав конечных продуктов включаются и азотсодержащие фрагменты, но их содержание по данным элементного анализа невелико в сравнении с продуктами систем второго типа.

В системах с *n*-аминобензойной кислотой нами выделено два твердых продукта, при этом неокрашенный продукт (рис. 5) идентифицирован нами как соответствующий *N*-гликозиламин *n*-аминобензойной кислоты, на что указывает ряд признаков, в частности практически сохраняется структура полос колебаний гликозидных колец в области 960 – 1160 см⁻¹, а также плечо при 3350 см⁻¹, что характерно для колебаний, связанных –NH вторичных аминов; элементный анализ: найдено, %: N 6,98; вычислено, %: N 7,04.

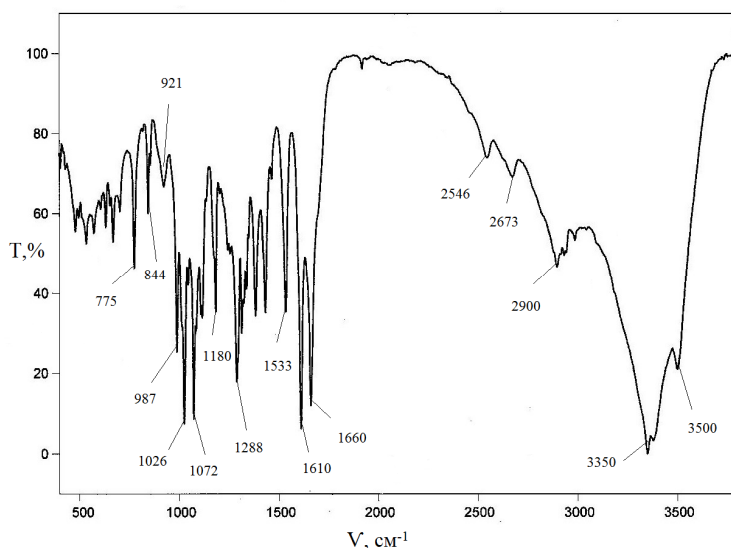


Рис. 5. ИК-спектр неокрашенного продукта, выделенного из системы *D*-глюкоза – *n*-аминобензойная кислота (KBr, 1:200)

ИК-спектр окрашенного продукта (рис. 6) не содержит полос, указывающих на наличие ариламинофрагмента, но в то же время отличается от спектров «браун»-продуктов в системах с *n*-толуидином.

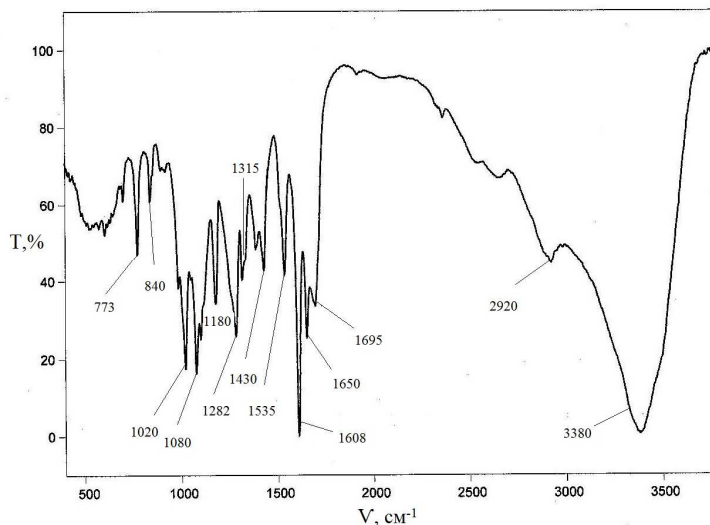
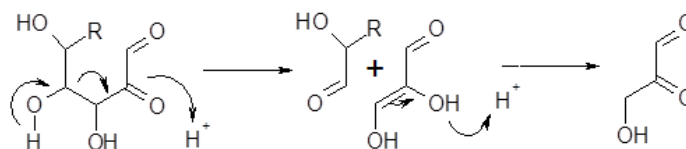


Рис. 6. ИК-спектр «браун»-продукта, выделенного из системы *D*-глюкоза – *n*-аминобензойная кислота (KBr, 1:200)

В структуре спектра фиксируются полосы как характерные для первого типа изученных систем, так и отличных от них, в частности появляется полоса при 1695 см^{-1} , а также несколько изменяется структура области «отпечатков пальцев». По данным элементного анализа содержание азота в конечном продукте невелико (около 3%), что свидетельствует о преобладании кислородсодержащих составляющих в структуре продукта.

Механизм образования «браун»-продуктов в данном случае по всей видимости отличается от приведенного выше для системы с *n*-толуидином, поскольку перегруппировка Амадори для слабоосновных аминов затруднена. Можно предположить, что на начальных стадиях протекает фрагментация исходного углевода:



Образовавшиеся при этом C_3 -редуктоны способны к конденсации с образованием производных фурана [12], при этом возможные механизмы и природа продуктов фрагментации в настоящее время активно дискутируются [13], но в любом случае такое направление развития процессов в системе с *n*-аминобензойной кислотой представляется нам наиболее вероятным.

ВЫВОДЫ

Изучены особенности строения кислород- и азотсодержащих продуктов термодеструкции *D*-глюкозы в присутствии *n*-толуидина и *n*-аминобензойной кислоты в кислотных этанольных средах. Установлено, что в системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин преобладающими структурными элементами продуктов являются пятичленные кислородсодержащие гетероциклы, образующиеся в результате кислотно-каталитической конденсации низкомолекулярных продуктов фуранового ряда, при этом содержание фрагментов ариламина незначительно.

Для систем с *n*-аминобензойной кислотой отмечено более высокое содержание ариламинокompонента, при этом структура «браун»-продуктов в двух типах изученных систем отлична, вероятно, вследствие различия механизмов деструкции углеводов и их конъюгатов на начальных стадиях. Кроме того, показано практически полное отсутствие углеводных остатков в составе конечных продуктов в обоих типах систем, что может свидетельствовать о прямой конденсации низкомолекулярных гетероциклических производных при формировании структуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Телегина Т. А., Давидянц С. Б. Реакция Майяра: аминок-карбонильные взаимодействия *in vivo* и меланоидины // Успехи биологической химии. 1995. Т. 35, № 2. С. 229-266.
2. Kato H. Studies on browning reactions between sugars and amino compounds // Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan, 1959, vol. 23, no. 2, pp. 551-554.
URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1924/23/6/23_6_551/_pdf (дата обращения 23.04.2017).
3. Shen S.-C., Wu J. S.-B. Maillard browning in ethanolic solution // Journal of Food Science, 2004, vol. 69, no. 4, pp. 273-279.
4. Shen S.-C., Tseng K.-C., Wu J. S.-B. An analysis of Maillard reaction products in ethanolic glucose-glycine solution // Food Chemistry, 2007, vol. 102, no. 1, pp. 281-287.
5. Kim T., Jeong J., Rahman M., Zhu E., Mahajan D. Characterizations of furfuryl alcohol oligomer/polymerization catalyzed by homogeneous and heterogeneous catalysts // Korean Journal of Chemical Engineering, 2014, vol. 31, no. 12, pp. 2124-2129.
6. Burket C., Rajagopalan R., Marencic A., Dronvajjala K, Foley H. C. Genesis of porosity in polyfurfuryl alcohol derived nanoporous carbon // Carbon, 2006, vol. 44, no. 14, pp. 2957-2963.
7. Cammerer B., Jalyschko W., Kroh L. Intact carbohydrate structures as part of the melanoidin skeleton // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, vol. 50, no. 7, pp. 2083-2087.
8. Adams A., Tehrani K. A., Kersiene M., Venskutonis R. and dDe Kimpe N. Characterization of model melanoidins by the thermal degradation profile // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, vol. 51, no. 15, pp. 4338-4343.
9. Черепанов И. С., Абдуллина Г. М. Изучение диализуемых меланоидиновых фракций водно-этанольных систем *D*-лактоза – ариламин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 17, № 2. С. 181-184.
10. Weenen H. Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry // Food Chemistry, 1998, vol. 62, no. 4, pp. 393-401.
11. Brands C. M. J., van Boekel M. A. J. S. Reactions of monosaccharides during heating of sugar–casein systems: building of reaction network model // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, vol. 49, no. 10, pp. 4667-4675.
12. Cammerer B., Wedzicha B., Kroh L. Nonenzymatic browning reactions of retro-aldol degradation products of carbohydrates // European Food Research and Technology, 1999, vol. 209, no. 3-4, pp. 261-265.
13. Smuda M., Glomb M. Fragmentation pathways during Maillard-induced carbohydrate degradation // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, vol. 61, no. 43, pp. 10198-10208.

STRUCTURE OF ALDOHEXOSE'S DESTRUCTION PRODUCTS IN ETHANOLIC MEDIA IN THE PRESENCE OF ARYLAMINES

¹Cherepanov I. S., ²Trubachev A. V., ¹Abdullina G. M.

¹Udmurt State University, Izhevsk, Russia

²Udmurt Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russia

SUMMARY. The structure of Maillard reaction products remains the main problem of non-enzymatic browning processes studying in carbohydrate-amine systems because of relationship between the melanoidins structure and wide range of their biologically important properties, such as antimicrobial, antioxidant and anticoagulant activity, is proved. The last properties are also noted for reaction products with arylamines as reagents, at the same time the brown polymers structure in similar systems is almost not investigated. Structure details of oxygen- and nitrogen-containing compound products in processes of *D*-glucose thermal degradation in the presence of *p*-toluidine and *p*-amino benzoic acid in acidic ethanolic media are studied. It is established that in the *D*-glucose system – *p*-toluidine the main building blocks of products are the five-membered oxygen-containing heterocycles which are formed as a result of acid catalytic condensation of low-molecular furan compounds, at the same time the maintenance of arylamine fragments is insignificant. The colored products are formed at the last stages as a result of direct heterocyclic intermediate

condensation, at the same time it is possible to assume that final products also included the nitrogenous compound fragments, but their contents according to an elemental analysis is small in comparison with products of second type systems. For systems with *p*-amino benzoic acid higher content of an arylaminocomponent is noted, but browning product's structure in both types of the studied systems is different probably owing to distinction of carbohydrate and their conjugates destruction mechanisms on early stages. The browning products formation mechanism in this case most likely differs from given above for system with *p*-toluidine because of Amadori rearrangement for weak-basic amines is complicated. It is possible to assume that on early states fragmentation of initial carbohydrate is realized, formed C₃-reductons are capable to condensation with formation of furan derivatives. Besides, practically the total absence of carbohydrate fragments as a part of last-stage products in both types of systems is shown that can demonstrate direct low-molecular heterocyclic compounds condensation to forming the target structure.

KEYWORDS: *D*-glucose, *p*-toluidine, *p*-aminobenzoic acid, IR-spectroscopy, ethanolic media.

REFERENCES

1. Telegina T. A., Davidyants S. B. Reaktsiya Mayara: amino-karbonil'niye vzaimodeistviya in vivo i melanoidini [Maillard reaction: amino-carbonyl interactions *in vivo* and melanoidins]. *Uspehi biologicheskoi himii* [Biological Chemistry Reviews], 1995, vol. 35, no. 2, pp. 229-266.
2. Kato H. Studies on browning reactions between sugars and amino compounds. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1959, vol. 23, no. 2, pp. 551-554.
URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1924/23/6/23_6_551/_pdf (accessed April 23, 2017).
3. Shen S.-C., Wu J. S.-B. Maillard browning in ethanolic solution. *Journal of Food Science*, 2004, vol. 69, no. 4, pp. 273-279. doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb06328.x
4. Shen S.-C., Tseng K.-C., Wu J. S.-B. An analysis of Maillard reaction products in ethanolic glucose-glycine solution. *Food Chemistry*, 2007, vol. 102, no. 1, pp. 281-287. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.05.018
5. Kim T., Jeong J., Rahman M., Zhu E., Mahajan D. Characterization of furfuryl alcohol oligomer/polymerization catalyzed by homogeneous and heterogeneous catalysts. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2014, vol. 31, no. 12, pp. 2124-2129. doi: 10.1007/s11814-014-0322-x
6. Burket C., Rajagopalan R., Marencic A., Dronvajjala K, Foley H. C. Genesis of porosity in polyfurfuryl alcohol derived nanoporous carbon. *Carbon*, 2006, vol. 44, no. 14, pp. 2957-2963. doi: 10.1016/j.carbon.2006.05.029
7. Cammerer B., Jalyschko W., Kroh L. Intact carbohydrate structures as part of the melanoidin skeleton. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no. 7, pp. 2083-2087. doi: 10.1021/jf011106w
8. Adams A., Tehrani K. A., Kersiene M., Venskutonis R. and dDe Kimpe N. Characterization of model melanoidins by the thermal degradation profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, no. 15, pp. 4338-4343. doi: 10.1021/jf0340254
9. Cherepanov I.S., Abdullina G.M. Izuchenie dializuemykh melanoidinovykh fraktsiy vodno-etanol'nykh sistem D-laktoza – arilamin [Study of dialyzable melanoidin fractions in aqueous-ethanolic *D*-lactose – aryl amine systems]. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology], 2017, vol. 7, no. 2, pp. 181-184. doi: 10.21285/2227-2925-2017-7-2-181-184
10. Weenen H. Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry. *Food Chemistry*, 1998, vol. 62, no. 4, pp. 393-401. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00074-0
11. Brands C. M. J., van Boekel M. A. J. S. Reactions of monosaccharides during heating of sugar-casein systems: building of reaction network model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, vol. 49, no. 10, pp. 4667-4675. doi: 10.1021/jf001430b
12. Cammerer B., Wedzicha B., Kroh L. Nonenzymatic browning reactions of retro-aldol degradation products of carbohydrates. *European Food Research and Technology*, 1999, vol. 209, no. 3-4, pp. 261-265. doi: 10.1007/s002170050490
13. Smuda M., Glomb M. Fragmentation pathways during Maillard-induced carbohydrate degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, vol. 61, no. 43, pp. 10198-10208. doi: 10.1021/jf305117s

Черепанов Игорь Сергеевич, кандидат химических наук, доцент кафедры Фундаментальной и прикладной химии УдГУ, тел. 8(3412)916-437, e-mail: cherchem@mail.ru

Трубачев Алексей Владиславович, кандидат химических наук, главный специалист УдНЦ УрО РАН, тел. 8(3412)207-658, e-mail: trub_av@mail.ru

Абдуллина Гулямза Миннулловна, магистрант 1 курса направления подготовки «Химия», Институт естественных наук УдГУ, тел. 8(3412)916-437, e-mail: guliamza91@mail.ru