

## 47. Malzoxazin, eine tricyclische Verbindung aus Gerstenmalz

von Roland Tressl und Bernd Helak

Institut für Chemisch-Technische Analyse der Technischen Universität, Seestr. 13, D-1000 Berlin 65

und Dieter Rewicki

Institut für Organische Chemie der Freien Universität, Takustr. 3, D-1000 Berlin 33

(9.X.81)

---

### Maltoxazine, a Tricyclic Compound from Malt

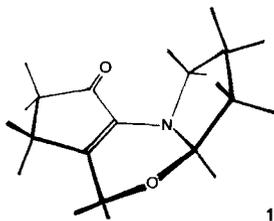
#### Summary

A new tricyclic compound, named maltoxazine, has been isolated from malt as well as from the reaction products formed in a model reaction of maltose with proline. The structure of maltoxazine (**1**) has been established by  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. The formation of **1** in several model reactions is strongly correlated with the formation of maltol and 5-hydroxy-5,6-dihydromaltol.

---

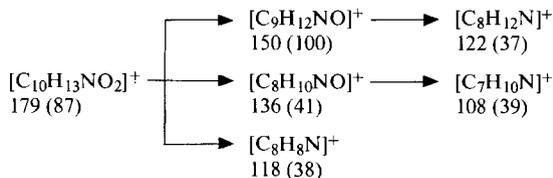
**1. Einleitung.** - Die Aromastoffe des Malzes bilden sich erst während des Dörrens. Durch *Strecker*-Abbau von Valin, Leucin und Isoleucin entstehen 2-Methylpropanal, 3-Methyl- und 2-Methylbutanal, die typischen Malzgeruch besitzen [1]. Die Umsetzung von Prolin mit Maltose führt zu cyclischen Enolonen wie Maltol, 5-Hydroxymaltol, 5-Hydroxy-5,6-dihydromaltol, Cycloten und Furaneol, die karamelartig empfunden werden und geschmacksverstärkend wirken [2]. Maltol, das *Brand* [3] schon 1893 aus Malz isolierte, betrachten mehrere Autoren [4] als Malz-impactkomponente.

In Modellumsetzungen von Prolin mit Maltose charakterisierten wir kürzlich 6-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin und 6-Acetyl-2,3,4,5-tetrahydropyridin, die brotigen Aromacharakter besitzen, und mehrere Pyrrolizinderivate, die Gebäckartig empfunden werden [5]. Als *konzentrationsstärkste* Verbindung entsteht dabei jedoch eine N-haltige Verbindung der Molmasse 179, deren Bildung eng mit Maltol (**4**) korreliert und die pyrrolidinartigen Cerealienflavor besitzt. Alle diese in Prolin/Maltose-Modellsystemen charakterisierten Verbindungen wurden auch in Malz und Bier nachgewiesen [5]. Die Strukturaufklärung der neuen N-haltigen Verbindung mit Hilfe physikalischer Methoden wird nachfolgend beschrieben. Es handelt sich danach um 8-Oxo-1,2,3,3a,5,6,7,8-octahydro-cyclopenta[*d*]pyrrolo[2,1-*b*]-[1,3]oxazin (**1**), unseres Wissens das erste «natürlich» vorkommende 2,3-Dihydro-4*H*-1,3-oxazin-Derivat [6], welches wir im folgenden kurz «Malzoxazin» nennen. Verbindung **1** ist im Malz in einer mit derjenigen von Maltol vergleichbaren Konzentration enthalten.



**2. Isolierung und Strukturaufklärung.** – Malzoxazin (**1**) wurde aus einem Heisswasserauszug von dunklem Malz bei pH 5,5 mit Pentan/Äther extrahiert, adsorptionschromatographisch an Kieselgel vorgereinigt und abgetrennt und schliesslich durch präparative Gas-Chromatographie in reiner Form isoliert. Im Malz sind *ca.* 10 mg **1** pro kg enthalten. In grösserer Menge entsteht **1** aus Prolin und Maltose bei pH 5 in der Siedehitze. Nach Extraktion mit Äther und säulenchromatographischer Reinigung wurden aus 1,8 kg Maltose und 300 g Prolin *ca.* 60 mg **1** in reiner amorpher Form gewonnen. Die aus verschiedenen Quellen isolierten Produkte waren in allen ihren Eigenschaften identisch.

Malzoxazin (**1**) ist in den meisten organischen Lösungsmitteln gut löslich, aus konzentrierten Lösungen scheiden sich beim Stehenlassen an der Luft jedoch bald teerige Zersetzungsprodukte ab. Die präzise massenspektrometrische Molmassenbestimmung ergab die Summenformel  $C_{10}H_{13}NO_2$ . Das Massenspektrum erwies sich als wenig aussagekräftig, selbst die Kombination Hochauflösung/DADI, welche die wichtigsten Zerfallswege offenlegte, lieferte keine konkreten Strukturinforma-



tionen. Das IR.-Spektrum (in  $CCl_4$ ) mit Absorptionsbanden bei 2960, 2930, 2860 ( $-CH_2-$ ), 1710 ( $C=O$ ) und 1640 ( $C=C$ ) gibt erste Hinweise auf bestimmte Strukturelemente. Das  $^1H$ -NMR.-Spektrum (*Fig. 1*) ist ausserordentlich komplex und zeigt, dass in **1** nur aliphatische, untereinander sämtlich chemisch nicht äquivalente H-Atome vorhanden sind. Das  $^{13}C$ -NMR.-Spektrum (*Fig. 1*) weist eindeutig sechs  $CH_2$ -Gruppen, eine CH-Gruppe, eine  $C=O$ -Gruppe und eine tetrasubstituierte  $C=C$ -Bindung auf. Hieraus folgt in Verbindung mit der Summenformel, dass eine tricyclische Verbindung vorliegt.

Die Struktur des Tricyclus ergibt sich aus den NMR.-spektroskopischen Daten. Durch die Aufnahme frequenzabhängiger «off-resonance»- $^{13}C$ -NMR.-Spektren, die infolge der Nichtäquivalenz der Methylenprotonen relativ kompliziert sind, und deren Auswertung [7] konnte die in *Figur 1* wiedergegebene wechselseitige Zuordnung zwischen den  $^1H$ - und  $^{13}C$ -Signalen getroffen werden. Die  $^1H$ -Homokopplungsexperimente (*Fig. 1*) zeigen, dass sich die H-Atome auf zwei Gruppen

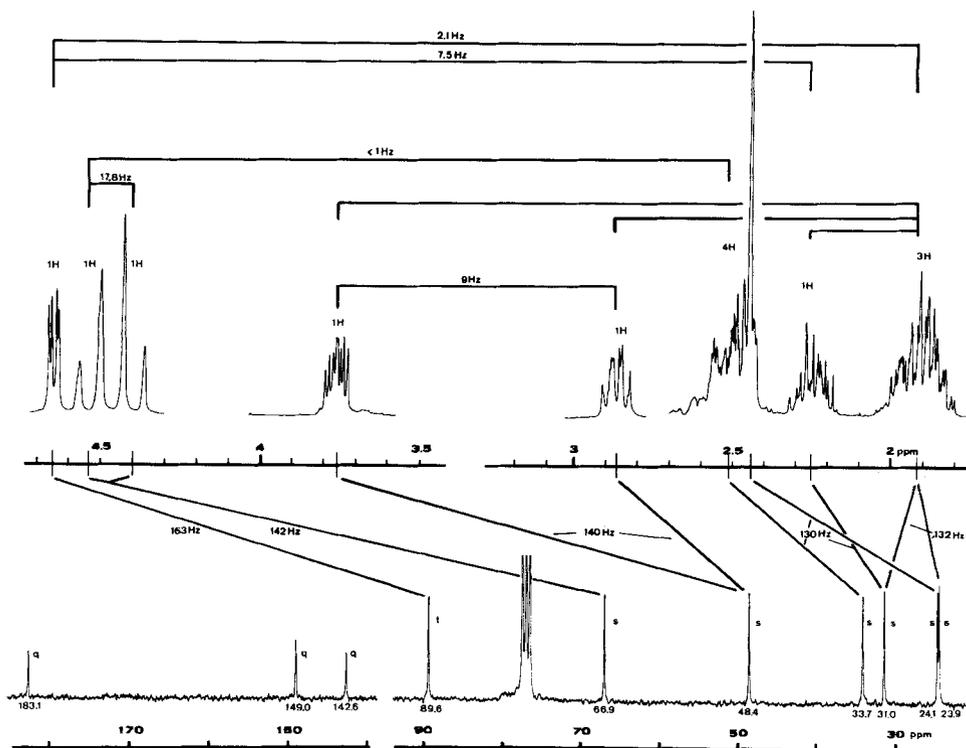
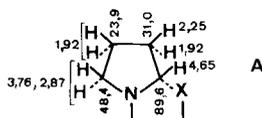


Fig. 1. a) 270-MHz- $^1\text{H}$ -NMR.-Spektrum und b) 67,89-MHz- $^1\text{H}$ -rauschenkoppeltes  $^{13}\text{C}$ -NMR.-Spektrum des Malzoxazins (1). Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ , Standard: TMS. Die wechselseitige Zuordnung von  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signalen erfolgte durch die Aufnahme frequenzabhängiger «off-resonance»- $^{13}\text{C}$ -Spekturen. Auf den entsprechenden Verbindungslinien ist  $^1J(^{13}\text{C}-\text{H})$  angegeben (q, t, s = quartäres, tertiäres bzw. sekundäres C-Atom). Im  $^1\text{H}$ -NMR.-Spektrum sind die relativen Intensitäten und die durch homonukleare Entkopplung ermittelte Verknüpfung der  $^1\text{H}$ -Signale angegeben.

(aus 6 bzw. 7 H-Atomen) verteilen, in denen sie jeweils nur untereinander durch Kopplungen verknüpft sind.

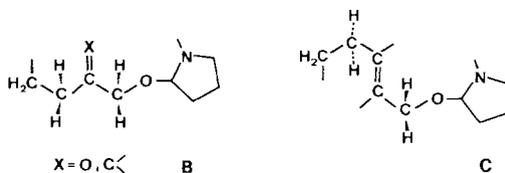
Die H-Atome der Siebenergruppe verteilen sich auf eine Methin- und drei Methylengruppen. Das Methinproton (4,65 ppm) koppelt mit den H-Atomen einer benachbarten  $\text{CH}_2$ -Gruppe (bei 1,92 und 2,25 ppm) mit 7,5 bzw. 2,1 Hz, also mit für die vicinale *cis*- und *trans*-Kopplung in Pyrrolidin-Ringen zu vereinbarenden Werten. Das komplexe Signal um 1,92 ppm (insgesamt 3 H-Atome) koppelt seinerseits mit zwei weiteren, in einer Methylengruppe vereinigten H-Atomen (2,87 und 3,76 ppm). Wir ordnen die betrachteten sieben H-Atome dem Strukturelement A zu, dessen Auftreten bei der Beteiligung von Prolin an der Bildung von Malzoxazin wahrscheinlich ist.

Die in A getroffene Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signale steht mit Ausnahme der chemischen Verschiebungen von H-C(2), C(2) und C(3) in Einklang mit solchen geeigneter Vergleichsverbindungen [8-10]. Die für H-C(2), C(2) und C(3) beobachteten Werte werden durch die Natur der Substituenten X in 2-Stellung



bestimmt. X kann aufgrund des beobachteten einfachen Aufspaltungsmusters von H-C(2) (Signal bei 4,65 ppm) selbst keine H-Atome tragen. Von den dann in Frage kommenden Alternativen X = -O-, >C=O oder >C=C< liefert die Äthergruppierung die bei weitem beste Übereinstimmung zwischen beobachteten und berechneten<sup>1)</sup> (in Klammern) NMR.-Daten:  $\delta(\text{H-C}(2)) = 4,65$  ppm (4,25, 3,95 bzw. 3,55 ppm),  $\delta(\text{C}(2)) = 89,6$  ppm (96, 50, 67 ppm),  $\delta(\text{C}(3)) = 31,0$  (36, 29, 33 ppm),  $^1J(\text{C}(2)\text{-H}) = 163$  Hz (157, 144, 139 Hz). Demnach liegt das Strukturelement **A** mit X = -O- vor.

Die sich an **A** anschliessenden Ringe des Tricyclus müssen mit Hilfe von drei CH<sub>2</sub>-Gruppen (deren H-Atome die zweite Gruppe miteinander koppelnder Protonen bilden), einer C=O-Gruppe und einer tetrasubstituierten C=C-Gruppe aufgebaut werden. Eine der CH<sub>2</sub>-Gruppen muss nach den beobachteten chemischen Verschiebungen (<sup>13</sup>C: 66,9 ppm, <sup>1</sup>H: 4,40 bzw. 4,53 ppm) sowie nach der Grösse von <sup>1</sup>J(<sup>13</sup>C-H) (142 Hz) direkt an das Äther-O-Atom gebunden sein. Sie muss, da neben der geminalen Kopplung von 17,8 Hz nur weitreichende Kopplungen ( $J = ca.$  1 Hz bei 4,53 ppm, < 1 Hz bei 4,40 ppm, koppelnd mit den H-Atomen um 2,51 bzw. 2,43 ppm) vorliegen, von den weiteren CH<sub>2</sub>-Gruppen durch die C=O- bzw. die C=C-Gruppe getrennt sein. Die Komplexität des um 2,50 ppm auftretenden, vier H-Atome repräsentierenden Protonensignals lässt sich nur mit einer CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Gruppierung erklären, da ausser den bereits erwähnten weitreichenden Kopplungen solche zu anderen H-Atomen nicht auftreten. Hieraus folgen die strukturellen Alternativen **B** und **C**:



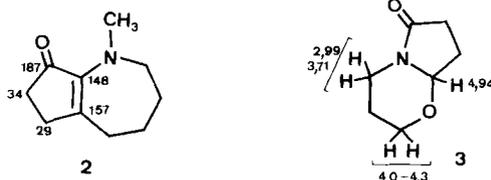
Die Schliessung der Ringe unter Einbeziehung der noch fehlenden Carbonylfunktion führt zu den Strukturalternativen **D-G**. **F** und **G** sind mit den beobachteten <sup>13</sup>C-Verschiebungen und der Lage der C=O-Valenzschwingungsbande nicht vereinbar. Von den verbleibenden Strukturen **D** und **E** besitzt **E** eine *trans*-fixierte vinyloge Säureamid-Struktur, wie sie bei einer Reihe von Alkaloid-Derivaten vorkommt. Für dieses Strukturelement ist eine grosse <sup>13</sup>C-Verschiebungsdifferenz zwischen den zur Carbonylgruppe  $\alpha$ - und  $\beta$ -ständigen olefinischen C-Atomen

<sup>1)</sup> Die berechneten Werte wurden der Einfachheit halber ausgehend von den entsprechenden Werten für Pyrrolidin [8] mit Hilfe der für aliphatische Verbindungen gültigen Substituenten-Inkremete [8] ermittelt.



typisch (90-100 und 140-150 ppm [11]), in der sich die unterschiedliche Ladungsverteilung auf die olefinischen C-Atome widerspiegelt. Die beobachtete, vergleichsweise niedrige Verschiebungsdifferenz ist nur mit Struktur **D** vereinbar.

Partialstrukturen **D** finden sich in den folgenden bekannten Verbindungen **2** [12] und **3** [13] wieder:



Die für **2** und **3** mitgeteilten NMR.-spektroskopischen Daten stimmen mit denen von **D** (strukturidentisch mit **1**) gut überein. Die Verbindungen **1** ( $\lambda_{\max} = 280$  nm) und **2** ( $\lambda_{\max} = 285$  nm,  $\log \epsilon = 3,83$  [12]) besitzen praktisch übereinstimmende Chromophore. Verbindung **2** zeigt in Lösung an der Luft ein ähnlich labiles Verhalten wie **1** (Verharzung). Verbindung **3** fragmentiert sich wie **1** unter Bildung eines Fragment-Ions  $M - 29$ .

**3. Zur Bildung von 1 in Malz und in Modellsystemen.** - Die Bildung von cyclischen Enolonen und Malzoxazin (**1**) in Malz und in einer Reihe von Modellsystemen wurde von uns gas-chromatographisch quantitativ untersucht. Die Ergebnisse sind in der *Tabelle* zusammengefasst.

Dunkles Gerstenmalz enthält demnach - neben 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4*H*-pyran-4-on (= 5-Hydroxy-5,6-dihydromaltol, **5**) [14] als konzentrationstärkste, mit Prolin in Furaneol und 5-Hydroxy-maltol überführbare [2] Verbindung - Maltol (**4**) und Malzoxazin (**1**) in vergleichbaren Konzentrationen. Die Modellversuche zeigen, dass die Bildung von **1** aus Prolin und verschiedenen Zuckern mit der Bildung von 5-Hydroxy-5,6-dihydromaltol und Maltol eng verknüpft ist. Diese drei Verbindungen entstehen bevorzugt aus Maltose und Glucose, weniger leicht aus Lactose, nicht aber aus 6-Desoxyhexosen und aus Pentosen. Im *Schema* ist eine Reaktionsfolge angegeben, die die Bildung der drei Verbindungen aus 1-Desoxyhexosen (Folgeprodukte der Umsetzung von Hexosen mit  $\alpha$ -Aminosäuren unter den Bedingungen der *Maillard*-Reaktion) als gemeinsamem Vorläufer zu erklären versucht.

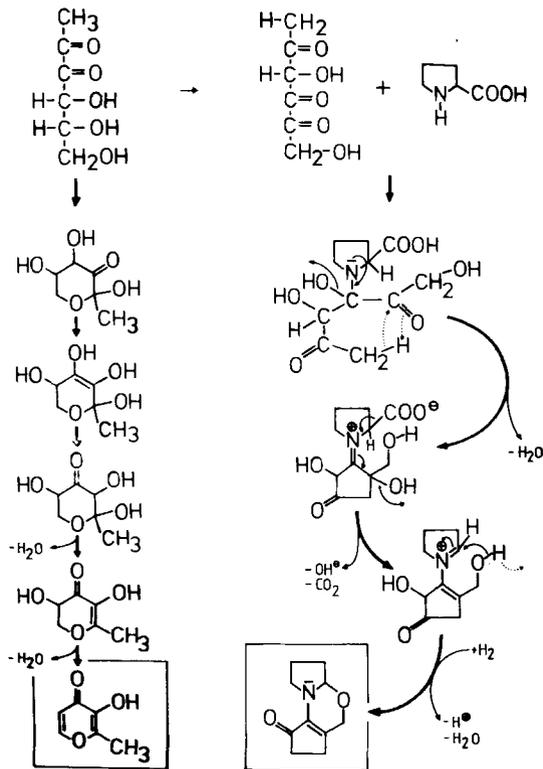
#### Experimenteller Teil

*Isolierung von Malzoxazin (1) aus dunklem Gerstenmalz.* Dunkles Gerstenmalz (400 g) wurde in einer Feinschrotmühle zermahlen, in Wasser (1 l) aufgeschlämmt und 1 Std. unter ständigem Rühren auf 50° erwärmt. Anschliessend wurde zentrifugiert (5000 U/min.; 10 Min.) und der erhaltene klare Heisswasserauszug bei pH 5,5 40 Std. mit Pentan/Diäthyläther 1:1 flüssig-flüssig extrahiert. Die

Tabelle. Gehalt an cyclischen Enolonen und Malzoxazin (1) in dunklem Gerstenmalz bzw. in Modellsystemen aus Prolin/Zucker (mol-Verh. 2:1, pH 5-6, 15 Std., Siedehitze)

Produkt		Gehalt (mg/kg Malz bzw. Zucker)					
		Malz	Prolin/ Maltose	Prolin/ Lactose	Prolin/ Glucose	Prolin/ Rhamnose	Prolin/ Pentose
1		10	40	17	34	-	-
4		15	350	13	+	-	-
5		60	6	6	25	+	-
6		3	1,5	1,5	3	+	-
7		3	-	-	-	480	-

Schema



organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und schonend auf ca. 1 ml eingengt. Die gas-chromatographische Analyse (3,5 m Glassäule,  $\varnothing \frac{1}{8}$  Zoll, 8% CW 20 M auf Chromosorb WAW/DMCS, 90 mesh) zeigte neben anderen Verbindungen ca. 4 mg Malzoxazin (10 ppm bezogen auf Malz). Durch präparative Gas-Chromatographie (3 m Glassäule,  $\varnothing \frac{1}{4}$  Zoll, 15% CW 20 M auf Chromosorb WAW/DMCS, 80-90 mesh) wurden ca. 3 mg Malzoxazin in einheitlicher amorpher Form isoliert. - UV. (Cary 17, THF,  $\lambda_{\text{max}}$  in nm): 280. - IR.-Spektrum (Perkin-Elmer 357, 500  $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$   $\text{CCl}_4$ ): 2930m, 2880w, 2860w, 1700s, 1640m, 1420m, 1370m, 1350m, 1305m, 1125s, 1035m, 1010m, 975m, 910m. -  $^1\text{H-NMR}$ . (Bruker WH 270,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Figur 1. -  $^{13}\text{C-NMR}$ . (Bruker WH 270,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Figur 1. - MS. (Varian MAT CH5-DF, 70 eV, 200°, m/z, in Klammern die rel. Intensität): 179,09490 (87,  $M^+$ ), 164 (9), 161 (26), 150 (100), 136 (41), 132 (13), 123 (36), 122 (37), 118 (38), 110 (24), 108 (39), 95 (50), 94 (41), 80 (32), 71 (16), 67 (34), 55 (20), 53 (37), 43 (17), 41 (41).

Ausser dem rauschenkoppelten  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum wurde ein gekoppeltes Spektrum sowie eine Serie frequenzabhängiger «off-resonance»-Spektren aufgenommen. Die Lage der durch Restkopplungen aufgespaltenen  $^{13}\text{C}$ -Signale der  $\text{CH}_2$ -Gruppen wurde gegen die Entkopplerfrequenz aufgetragen und nach [7] eine wechselseitige Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signale vorgenommen.

*Herstellung von Malzoxazin (1) aus Maltose und L-Prolin.* Die Lösung von 1800 g (5 mol) Maltose und 300 g (2,6 mol) L-Prolin in 2 l Wasser wurde 2 Std. bei pH 5,5 zum Sieden erhitzt. Wasserdampf-flüchtige Nebenprodukte wurden in einer Destillations-Extraktions-Apparatur nach Likens & Nickerson abgetrennt. Das nicht wasserdampf-flüchtige Malzoxazin wurde mit Diäthyläther aus der wässrigen Phase flüssig-flüssig extrahiert. Die ätherische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und an einer 30-cm-Vigreux-Kolonnen schonend auf ca. 10 ml eingengt. Die gas-chromatographische Analyse ergab neben ca. 70 mg Malzoxazin vergleichbare Mengen an Furfurylalkohol und andere konzentrationsschwache Verunreinigungen. Eine Trennung mittels präp. Schichtchromatographie (PSC-Fertig-platten,  $20 \times 20$  cm, Aluminiumoxid T, Merck) ergab keine ausreichende Trennung zwischen Malzoxazin und Furfurylalkohol. Durch Säulenchromatographie (Kieselgel 60, 70-230 mesh ASTM von Merck;  $80 \times 1,5$  cm; Eluierungsmittel: 400 ml Pentan/Diäthyläther 2:1, 400 ml Diäthyläther) gelang die Trennung: Mit dem Lösungsmittelgemisch konnte zuerst der Furfurylalkohol, mit dem Diäthyläther das Malzoxazin eluiert werden. Nach schonendem Eindampfen wurden ca. 60 mg Malzoxazin (1) in amorpher Form isoliert. Die einheitliche, in Lösung sich rasch braun färbende und harzige Produkte bildende Verbindung erwies sich in allen spektroskopischen Eigenschaften mit der aus Malz isolierten identisch.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J.E. Amoore, L.J. Forrester & P. Pelosi, Chem. Senses Flavor 2, 17 (1976).
- [2] F.D. Mills & J.E. Hodge, Carbohydr. Res. 51, 9 (1976).
- [3] J. Brand, Z. Gesamte Brauwes. 16, 303 (1893).
- [4] J. Solms, Chimia 21, 169 (1967).
- [5] R. Tressl, K.G. Grünwald, R. Silwar & B. Helak, EBC-Proc. 18th Congr. Copenhagen 1981, in press.
- [6] T. Kato, N. Katagiri & Y. Yamamoto, Heterocycles 9, 1333 (1980).
- [7] K. Roth & H. Bauer, Org. Magn. Reson. 15, 331 (1981).
- [8] M. Hesse, H. Meier & B. Zeeh, «Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie», G. Thieme Verlag, Stuttgart 1979.
- [9] K.G.R. Pachler, J.P. Tollenaere & P.L. Wessels, Tetrahedron 25, 5255 (1969).
- [10] D.E. Dorman & F.A. Bovey, J. Org. Chem. 38, 2379 (1973).
- [11] E. Wenkert, C.J. Chang, H.P.S. Chawla, D.W. Cochrau, E.W. Hagamau, J.C. King & K. Orito, J. Am. Chem. Soc. 98, 3645 (1976).
- [12] D. Schumann, Techn. Univ. Berlin, priv. Mitteilung.
- [13] M. Okita, T. Wakamatsu, M. Mori & Y. Ban, Heterocycles 14, 1089 (1980).
- [14] F.D. Mills, D. Weisleder & J.E. Hodge, Tetrahedron Lett. 1970, 1243.