

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y SUPERIORES DE MONTERREY

ESCUELA DE CIENCIAS

DE LA

UNIVERSIDAD

MONTERREY, N. L.

JUNIO DE 1967

TL

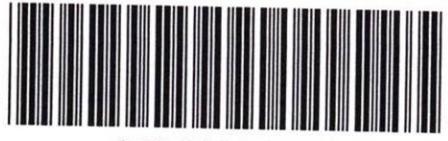
QD281

.A6

G37

1967

c.1



1080125290

TEC- COL. Y 267  
000017  
Tesis 9.063



BBLO LCA I. Q

I. T. S. M.  
BIBLIOTECA

DONATIVO DE Graciela Y.  
Garza Resales \$ 5.00  
27 de Octubre de 1971

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE MONTERREY

ESCUELA DE CIENCIAS

ESTUDIO CINÉTICO DE LA  
TRANSPOSICIÓN DE AMADORI

TESIS QUE PRESENTA  
GRACIELA YOLANDA GARZA ROSALES  
EN OPCIÓN AL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Monterrey, N. L.

Junio de 1967

54981

A mis padres con cariño

A mis hermanos

A Ramón

A mis abuelitos

A mis tíos

A mis amigos y maestros

Mi agradecimiento al Dr. Manuel Urquiza por su dirección en el desarrollo de esta tesis, y también al Dr. Xorge Alejandro Domínguez y al Q.B. y M.Sc. Fidel Villarreal por las correcciones hechas a la misma.

I N D I C E

|   | Pág. |
|---|------|
| I.- INTRODUCCION . . . . .                                  | 1    |
| II.- PARTE EXPERIMENTAL . . . . .                           | 6    |
| A).- Preparación de reactivos. . . . .                      | 7    |
| 1).- N-p-toluil-D-glucosilamina . . . . .                   | 7    |
| 2).- l-desoxi-l-p-toluidina-D-fruc-<br>tosa . . . . .       | 9    |
| B).- Método Analítico. . . . .                              | 12   |
| 1).- Reactivo de Tillman. . . . .                           | 12   |
| 2).- Procedimiento Analítico. . . . .                       | 12   |
| C).- Método Cinético . . . . .                              | 16   |
| III.- CALCULOS Y RESULTADOS. . . . .                        | 22   |
| A).- Orden en Azúcar . . . . .                              | 22   |
| 1).- N-p-toluil-D-glucosilamina (PTG)                       | 23   |
| 2).- l-desoxi-l-p-toluidina-D-fruc-<br>tosa (DTF) . . . . . | 26   |
| B).- Catálisis General Acida . . . . .                      | 27   |
| C).- Efecto del Agua . . . . .                              | 28   |
| D).- Efecto de la Temperatura. . . . .                      | 32   |
| IV.- DISCUSION. . . . .                                     | 35   |
| A).- N-p-toluil-D-glucosilamina. . . . .                    | 35   |
| B).- l-desoxi-l-p-toluidina-D-fructosa . . . . .            | 45   |
| V.- CONCLUSIONES . . . . .                                  | 53   |
| BIBLIOGRAFIA . . . . .                                      | 55   |

## I.- INTRODUCCION

La transposición de Amadori es una reacción que se efectúa en las aldósilaminas para convertirse en 1-amino-1-desoxi-2-cetosas. Las aldósilaminas son compuestos derivados de aldózúcares y cualquier tipo de amina (aromática, aralquil o alquil amina) o secundarias (conteniendo radicales: dialquilos, alquil-aril, aralquilos, isocíclicos y alquil-heterocíclicos) (18). También se efectúa con aldózúcares y aminas primarias o secundarias formándose como intermediario las aldósilaminas y posteriormente las 1-amino-1-desoxi-2-cetosas.

La transposición de Amadori recibe este nombre porque Mario Amadori estudió de 1925 a 1931 la condensación de D-glucosa con aminas aromáticas: p-toluidina, p-anisidina y p-fenetidina; obteniendo dos isómeros de propiedades diferentes, uno de ellos era estable y con punto de fusión alto, el otro isómero era inestable al dejarse en el medio ambiente y su punto de fusión era más bajo. Estableció erróneamente que el isómero estable correspondía a una base de Schiff (18).

Posteriormente Kuhn y Dansi determinaron que el isómero estable de Amadori no era una base de Schiff y que el isómero inestable era una N-glicosilamina sustituida (18).

En 1937 Kuhn y Weygand reportaron que la verdadera estructura del isómero estable de Amadori era 1-amino-1-desoxi-2-cetosa (18).

La transposición de Amadori es de gran importancia porque se utiliza en la síntesis de muchos compuestos como: riboflavina, osazonas, quinoxalinas, ácido fólico y compuestos semejantes a las osazonas (18). Además es la causa de la descomposición no enzimática en los sistemas formados por azúcares y aminos o aminoácidos, la cual se caracteriza por una coloración café rojizo o rojo intenso. En esta descomposición se efectúan los siguientes pasos (4): 1) Se condensan los azúcares reductores y los amino compuestos para formar N-glicósidos. 2) Se forman disoxiaminocetosas a partir de N-glicósidos. 3) Las desoxiaminocetosas se deshidratan espontáneamente a reductonas nitrogenadas. 4) Las desoxiaminocetosas inestables producen la degradación de Strecker de los aminoácidos por medio de sus productos de fisión y/o deshidratación aún en la ausencia de aire, formando aldehído y bióxido de carbono. 5) Se forman pigmentos cafés, lentamente cuando se descomponen solas las reductonas nitrogenadas y rápidamente cuando reaccionan con aminoácidos.

Cuando la transposición de Amadori se efectúa entre azúcares reductores y aminoácidos, se conoce como

reacción de Maillard (18).

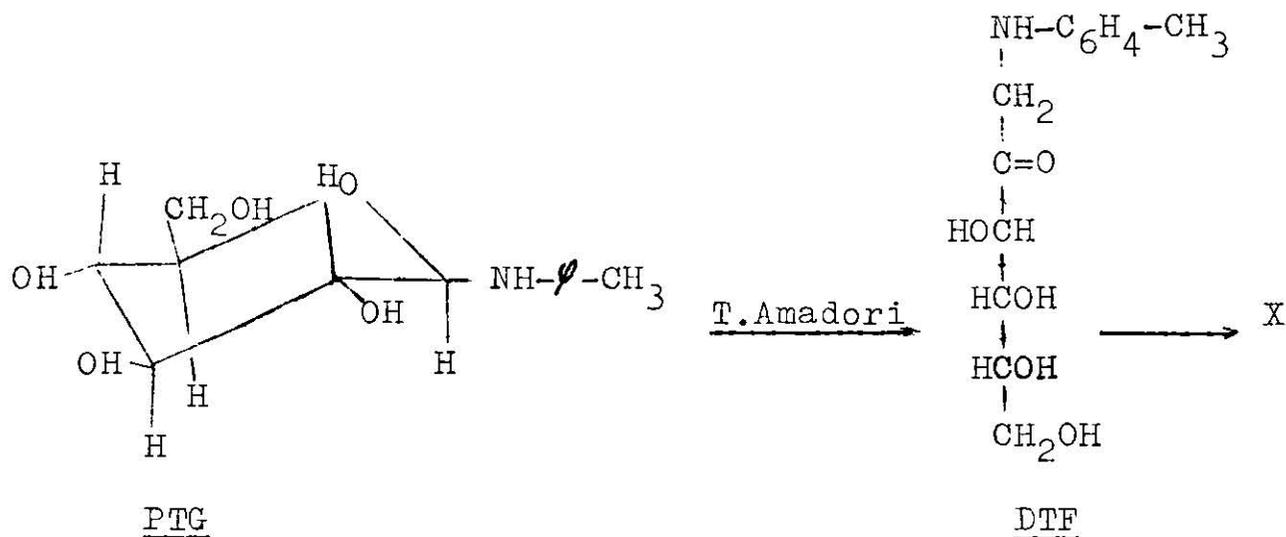
La transposición inversa de Amadori de cetosilaminas a las correspondientes 2-amino-2-desoxi-aldosas (7) es aún motivo de estudio pues se sabe muy poco acerca de ella; y es conocida como la transposición de Heynes-Carson o simplemente de Heynes (10).

La transposición de Amadori es una reacción en la cual se presenta la catálisis ácido-base (18).

Rosen, Woods y Pigman (13) estudiaron la transposición de Amadori en soluciones de piridina-ácido, notando que la velocidad de reacción aumentaba al aumentar la concentración del ácido hasta cierto límite, pues arriba de éste la reacción seguía otro curso; también notaron que en solución de metanol-ácido no había reacción, deduciendo de esto que es necesario tener una solución ácido-base en la cual el donador de protones puede ser un ácido como el clorhídrico o el acético y la base puede ser piridina o piridina-metanol.

Otros investigadores también han estudiado la transposición de Amadori utilizando como donador de protones compuestos que tengan hidrógenos metilénicos activos como el malonato de etilo (4), y otros como Micheel (9) han utilizado dioxano en lugar de piridina.

Rosen y colaboradores (13) establecieron que la descomposición de N-p-toluidil-D-glucosilamina (PTG) es una reacción consecutiva:



X (17) representa compuestos del tipo aldehydos  $\alpha, \beta$  insaturados;  $\alpha$ -dicarbonilos y reductonas que son compuestos  $\alpha$ carbonil enedíoles que tienen propiedades semejantes al ácido redúctico que es la 1,2-dihidroxici clopentanona-3.

Estos investigadores (13) estudiaron por separado la transposición de Amadori de PTG a DTF (1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa) y la descomposición de DTF a X, descubriendo que ambas son catalizadas por una solución de piridina-ácido. Los ácidos que utilizaron para estas reacciones fueron clorhídrico y acético. Para la primera reacción se observó que el mejor catalizador es el ácido acético 0.377 N porque se obtiene el mayor renu

dimiento, en cambio para la segunda reacción el mejor catalizador es el ácido clorhídrico 0.097 N.

Hasta la fecha no se ha hecho ningún estudio cinético sobre esta reacción, pretendiendo el presente -- trabajo estudiar desde un punto de vista cinético la -- transposición de Amadori en la N-p-toluil-D-glucosilamina, tomando como base el mencionado trabajo de Rosen, - Woods y Pigman (13), pero como la transposición de PTG a DTF es una reacción en la que el DTF puede continuar descomponiéndose a otras sustancias, es necesario estudiar por separado ambas reacciones para saber hasta qué punto interfiere en la velocidad de reacción del PTG a DTF la descomposición de este último a otras sustancias.

## II.- PARTE EXPERIMENTAL

Las fuentes de origen de las principales sustancias empleadas en este trabajo se indican a continuación:

ácido acético (Productos Químicos Monterrey, S.A.)  
ácido clorhídrico (Productos Químicos Monterrey, S.A.)  
etanol absoluto (Química Monterrey, S.A.)  
etanol de 96%  
dextrosa anhidra (Baker Analyzed Reagent)  
éter etílico comercial  
hidróxido de sodio (Baker Analyzed Reagent)  
hidróxido de amonio (Productos Químicos Monterrey, S.A.)  
metanol (Baker Analyzed Reagent)  
piridina (Baker Analyzed Reagent)  
pirogalol (Matheson Coleman and Bell)  
p-toluidina (Fisher Scientific Co.- Technical)  
sal sódica de 2,6-diclorofenol indofenol (Carlo Erba)  
sal sódica de 2,6-diclorobencenona indofenol (Matheson Coleman and Bell)

Para determinar la rotación específica de los compuestos se usó un polarímetro Officine Galileo No. 1834.

Para los puntos de fusión se usó un aparato Melt Temp Laboratory Devices.

A).- Preparación de reactivos

1).- N-p-toluidil-D-glucosilamina

En el presente trabajo se utilizó PTG monohidratado\* en cuya preparación se siguió el método empleado por Weygand (14) el cual se indica a continuación.

En un matraz erlenmeyer se mezclaron 10 g. de glucosa anhidra, 8 g. de p-toluidina, 3 ml. de agua bi-destilada; la mezcla se calentó en un baño de agua a -- 98°C agitándose continuamente. Se formaron dos capas: la inferior transparente e incolora que corresponde a la glucosa y la superior ambarina que corresponde a la p-toluidina. Después de 8 minutos de calentamiento agitando constantemente, la mezcla se homogenizó; se continuó calentando durante 5 minutos más, al final de los cuales la mezcla adquirió una coloración café rojiza, se sacó del baño de agua y se le añadieron 10 ml. de etanol de 96% que es un solvente que propicia la cristalización; la mezcla se guardó en un refrigerador. Des-

---

\* Hay tres tipos de PTG: anhidro, hemihidratado y monohidratado. Existen procedimientos diferentes para la preparación de cada uno de ellos y se diferencian entre sí por el punto de fusión.

pués de 48 horas se observaron cristales en forma de pequeñas agujas blancas, las cuales se separaron por fil-tración.

Los cristales (PTG-1) se lavaron varias veces con éter etílico comercial. Los cristales se secaron en desecador a temperatura ambiente; se determinó el -- punto de fusión notándose que a  $111^{\circ}\text{C}$  hay un ligero cambio en la coloración de ellos, fundiendo de  $112-113^{\circ}\text{C}$ . (el punto de fusión reportado en la literatura es de --  $112-113^{\circ}\text{C}$  con descomposición) (13).

Las aguas madres y de lavado se guardaron en un refrigerador, obteniéndose una segunda cosecha (PTG-2). Estos cristales cambian ligeramente de coloración a --  $110^{\circ}\text{C}$  y funden de  $112-113^{\circ}\text{C}$  al igual que PTG-1.

La razón por la cual a las dos cristalizaciones se les determinó por separado el punto de fusión, - es que este compuesto se descompone con facilidad.

Este compuesto es inestable cuando se haya en presencia de vapores ácidos. El PTG se guardó en un desecador con atmósfera de hidróxido de amonio, durante - mes y medio aproximadamente sin descomponerse. La descomposición se advierte por un cambio en la coloración, ya que pasa de blanca a café y también el punto de fu--sión varía.

TABLA 1

Rotación Específica del PTG\*

| <u>α<sub>D</sub></u> Exp. | <u>g/100ml</u> | <u>[α]<sub>D</sub> Reportado</u> | <u>g/100ml</u> | <u>Solvente</u> | <u>Ref.</u> |
|---------------------------|----------------|----------------------------------|----------------|-----------------|-------------|
| -111.1° → -45°            | 0.988          | -98.5° → -46.5°                  | 1.00           | metanol         | 1           |
| -101° → -82.8°            | 1.011          | -92.5° → -35.5°                  | -              | EtOH abs.       | 8           |

Se determinó la rotación específica del PTG en metanol y etanol absoluto. En la Tabla 1 se comparan los valores de  $\alpha_D$  obtenidos experimentalmente y los reportados en la literatura.

El rendimiento promedio de la reacción fue de 43%.

## 2).- 1-Desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa (DTF)

En la preparación de DTF se siguió el método empleado por Weygand (15) que se describe a continuación.

En un matraz erlenmeyer se mezclaron 10 g. de glucosa anhidra, 8 g. de p-toluidina, 2.5 ml. de agua bidestilada y 0.5 ml. de ácido acético 2N. La mezcla se calentó en baño de agua a 98°C agitándose continua--

\*Los valores de la rotación específica obtenidos experimentalmente varían de los reportados en la literatura, pero esta diferencia existe aún entre los mismos investigadores (Ref. 18, p. 147).

mente durante 30 minutos. Al principio se formaron dos capas: la inferior transparente e incolora que corresponde a la glucosa y la superior café rojiza de la p-toluidina; a los 10 minutos se homogenizó la mezcla, notándose que ésta se hacía más oscura a medida que transcurría la reacción.

Se sacó el matraz del baño de agua y se le añadieron 10 ml. de etanol absoluto empezando la cristalización a los 20 minutos. El matraz se guardó en un refrigerador por 24 horas para que la cristalización fuera completa.

Los cristales formados (DTF-1) se separaron por filtración, lavándose con una mezcla de etanol absoluto-éter etílico comercial en una proporción de 2:3 v/v. Estos cristales eran escamas blancas brillantes, mismos que se secaron en una estufa a 60-65°C. Se determinó el punto de fusión, notándose a 142° un cambio ligero en su coloración, pasando de blanca a café claro, fundiendo a 151.5-152.5°C con descomposición, quedando un líquido café muy oscuro (el punto de fusión reportado en la literatura es de 153°C). (15).

Las aguas madres y de lavado se guardaron en un refrigerador, pero no hubo cristalización.

El compuesto se guardó en un desecador en ausencia de vapores de amoniaco.

El DTF es un compuesto que dura aproximadamente seis meses sin descomponerse.

El rendimiento promedio de este compuesto fue de 56%.

Se determinó la rotación específica del DTF - en metanol, ácido clorhídrico 0.4N y piridina. A continuación se comparan los valores de  $[\alpha]_D$  obtenidos experimentalmente y los reportados por la literatura:

TABLA 2

## Rotación Específica del DTF

| $[\alpha]_D$ Exp. | g. en 100ml. | $[\alpha]_D$ Reportado | g. en 100ml | Solvente | Ref. |
|-------------------|--------------|------------------------|-------------|----------|------|
| -55.8°            | 0.50         | -56°                   | 0.24        | HCl 0.4N | 8    |
| -41.9° → -19.44°  | 0.488        | -23° → -10°(a)         | 0.05        | metanol  | 1    |
|                   |              | -63.8° → -24.4°(b)     |             |          |      |
| -60° → -25.2°     | 1.148        | -64° → -21°            | 1.10        | piridina | 4    |

(a) Valor de  $[\alpha]_D$  obtenido por Bayne y Holms  
 (b) Valor de  $[\alpha]_D$  obtenido por Weygand

El PTG como el DTF preparados por estos métodos se obtienen muy puros por lo que no hay necesidad de recristalizarlos (14), ya que sus puntos de fusión -

concuerdan con los de la literatura, o sea 112-113°C (re<sub>u</sub>portado 112-113°C descomp.) para el PTG y 151.5-152.5°C (reportado 153°C descomp.) para el DTF.

#### B).- Método Analítico

El reactivo de Tillman se utilizó para seguir la cinética del PTG y del DTF (13), los cuales se descomponen en la siguiente forma:



X son reductonas.

El reactivo de Tillman es reducido por el DTF .

#### 1).- Reactivo de Tillman (RT)

Para preparar el RT se pesaron aproximadamente 60 mg. de la sal sódica del 2,6-diclorofenol indofenol y se aforó a un litro con agua bidestilada, la solución tenía un color azul obscuro, se conservó a una temperatura de 5-8°C para evitar que se descompusiera rápidamente.

El RT se valoró utilizando una solución de - - 0.01 g. de DTF aforado a 10 ml. con piridina a temperatura ambiente.

#### 2).- Procedimiento Analítico

Se puso 1 ml. de la solución anterior en un ma

matraz kitasato que contenía 10 ml. de hidróxido de sodio 0.09N. El NaOH debe existir en un exceso de 0.9 miliequivalentes después de la neutralización de los ácidos libres (13); en este trabajo se usó solución de hidróxido de sodio de tal concentración que quedaba un exceso de 0.45 miliequivalentes después de la neutralización de los ácidos libres, obteniéndose los mismos resultados. El matraz kitasato se tapó con un tapón bihoradado, por un orificio se pasó una corriente de gas natural, el cual previamente se hizo burbujear en una solución acuosa saturada de pirogalol para quitarle el oxígeno que pudiese traer. El gas natural sirve para mantener una atmósfera no-oxidante pero para los mismos fines puede utilizarse nitrógeno. Por el otro orificio se introdujo la boca de una bureta la cual contenía RT, éste se añadía en cantidades de 0.5 ml. agitándose al mismo tiempo con un agitador magnético. El tiempo que tardaba en decolorarse el RT se medía con un cronómetro; el punto final de la titulación fue cuando se necesitaron 50 segundos o más para decolorar 0.5 ml. de RT (ver Fig. 1). Los últimos 0.5 ml. que se añadieron se incluyeron en la titulación. Generalmente se consumieron de 10 a 17 ml., y 1 ml. de RT equivalía de 0.055 a 0.090 mg. de DTF. Durante la titulación el RT se mantuvo en baño de hielo.

El RT debe valorarse cada vez que se utilice, pues su concentración varía con el tiempo como se indica a continuación:

TABLA 3

Variación de la concentración del RT con el tiempo

| <u>Tiempo(horas)</u> | <u>Tiempo(días)</u> | <u>mg.de DTF/ml.de RT</u> |
|----------------------|---------------------|---------------------------|
| 2.00                 | 0.083               | 0.056                     |
| 30.25                | 1.0041              | 0.058                     |
| 48.50                | 2.0083              | 0.078                     |
| 126.50               | 5.0083              | 0.066                     |
| 145.50               | 6.0083              | 0.072                     |
| 170.33               | 7.0055              | 0.072                     |
| 222.50               | 9.0083              | 0.072                     |
| 362.25               | 15.0041             | 0.082                     |

La valoración del RT cambió al variar los solventes en los que se hizo la solución de DTF como se indica a continuación:

TABLA 4

Variación de la concentración del RT con el solvente

| <u>Solvente</u> | <u>mg.de DTF/ml.de RT</u> | <u>color de la solución de DTF</u> |
|-----------------|---------------------------|------------------------------------|
| Agua            | 0.060                     | incolora                           |
| NaOH 0.09N      | 0.066                     | amarilla                           |
| piridina        | 0.089                     | incolora                           |

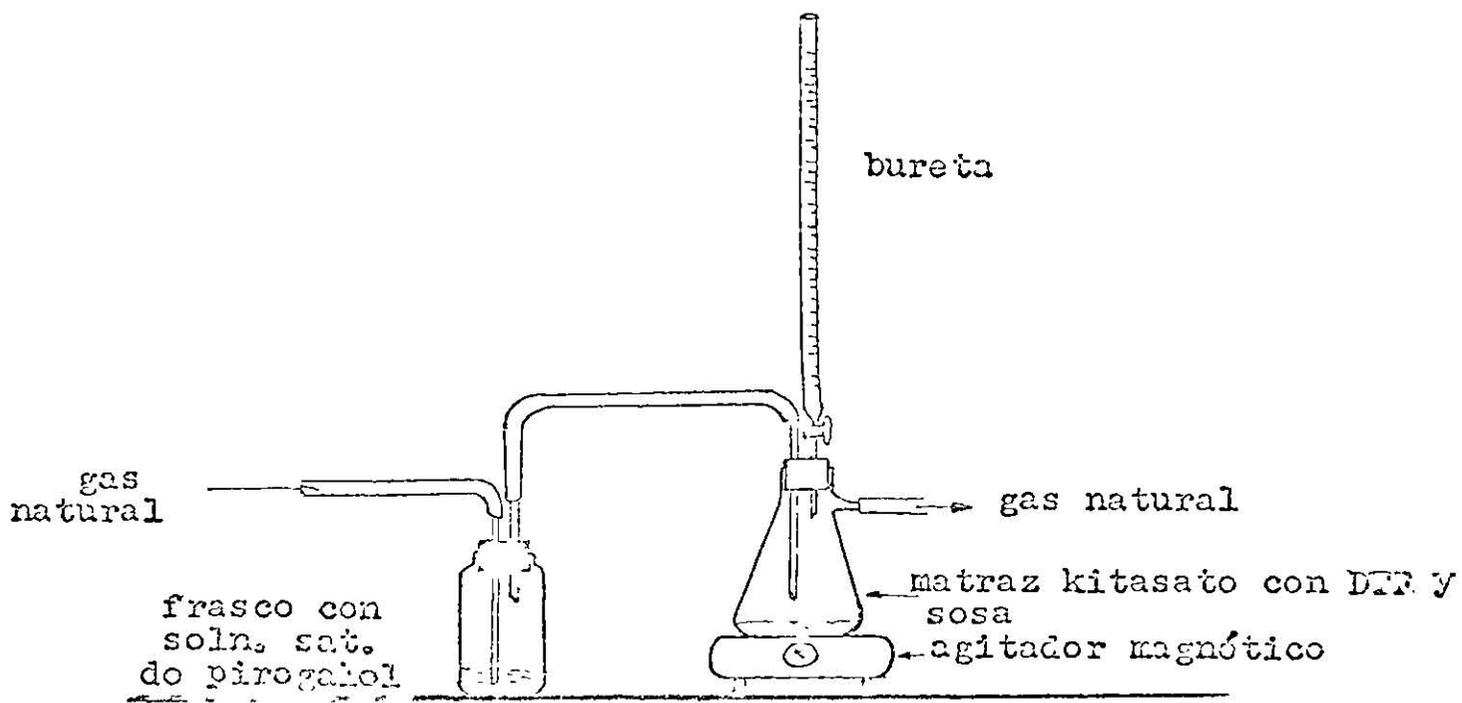


FIGURA 1.  
Titulación de DTF con reactivo de Tillman.

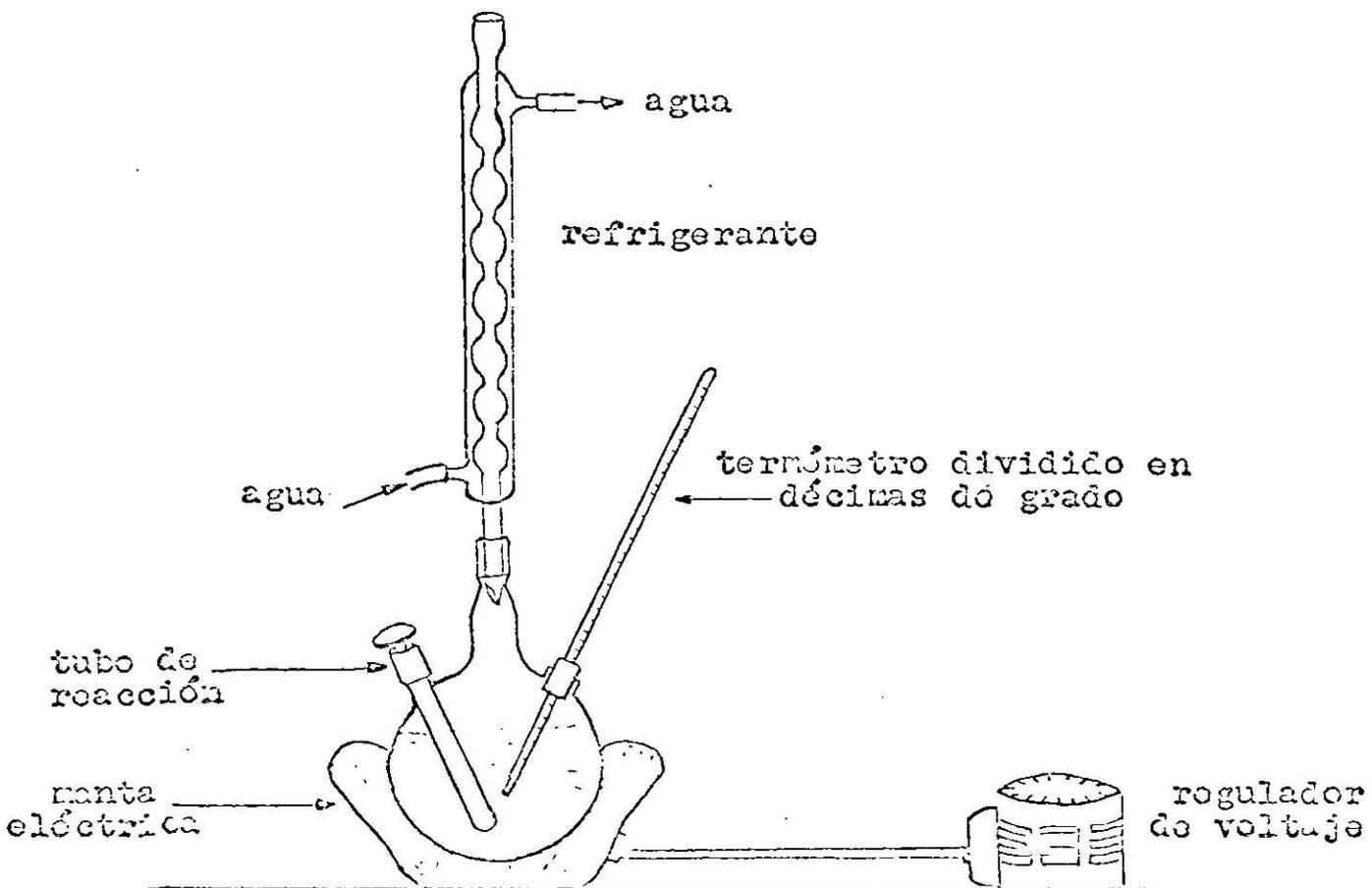


FIGURA 2.  
Aparato para efectuar la reacción de descomposición de PFG y DTF. B'

### C).- Método Cinético

Para seguir la cinética de descomposición del PTG y del DTF se utilizó el método empleado por Rosen, - - Woods y Pigman (13) con algunas modificaciones.

Los experimentos hechos con PTG también se hicieron en iguales condiciones con el DTF, ya que la descomposición del PTG es una reacción consecutiva (pág. 12).

A continuación se describe el método que se tomó como estándar en la cinética de estos compuestos.

En un matraz aforado de 10 ml. se pusieron 0.21 -- ml. de ácido acético (d. 1.055 g/ml.) que correspondía a una solución 0.369N y piridina hasta la mitad del volumen aproximadamente, agitando constantemente para que se homogenice la mezcla, ésta se calentó en un baño de agua cuya temperatura era de 98°C (punto de ebullición del agua); cuando la mezcla alcanzó esa temperatura se le agregó 0.1204 g. de PTG que equivalía a una solución 0.0416 M ó 0.1204 g. de DTF que equivalía a una solución 0.04475 M según fuera el compuesto con el cual se trabajara.

El tiempo de reacción se empezó a tomar al añadir el compuesto a la solución de piridina-ácido acético. Se completó de aforar con piridina a la misma tempera-

tura. El matraz se sacó del baño de agua y su contenido se vertió en el tubo de reacción del aparato de la figura 2. Este aparato estaba formado de un matraz bola que contenía núcleos de ebullición; agua que se usó como baño para mantener constante la temperatura de reacción; un refrigerante que se empleó para evitar la evaporación del agua; un termómetro dividido en décimas de grado para verificar la temperatura de reacción; y un tubo de ensayo soldado al matraz, en él se efectuó la reacción, el tubo se cerraba con un tapón esmerilado; no se usó tapón de corcho o de caucho porque se descomponen con la piridina y esto puede interferir en la reacción. El baño de agua se calentó por medio de una manta eléctrica que se conectó a un regulador de voltaje (Variac).

Se tomaron muestras de 0.5 ml. las que se vertieron en un matraz kitasato de 250 ml. que contenía 5 ml. de NaOH (0.1269N) de una concentración tal que hubiera un exceso de 0.45 miliequivalentes aproximadamente después que se ha efectuado la neutralización de los ácidos libres. El matraz con el NaOH se enfrió en baño de hielo antes de añadir la muestra; todo esto fue con el fin de detener la reacción.

La muestra se tituló con el reactivo de Tillman --

siguiendo el mismo método que se utilizó para valorar - el reactivo de Tillman (pág. 15 y fig. 1). Durante el experimento el RT se mantuvo a una temperatura de 5 a - 8°C para evitar que se descompusiera rápidamente.

Al descomponerse el PTG y el DTF la mezcla de reacción cambiaba de incolora o ligeramente amarilla a café muy oscura. Cuando la muestra era muy oscura se diluía con agua bidestilada para apreciar mejor el vire.

Para los experimentos que se realizaron a temperaturas de 90° y 80°C se utilizaron mezclas de etanol-agua (5) en lugar del baño de agua, obteniéndose muy buenos resultados. Cuando se trabajó a temperatura de 90°C se usó una solución de 10% en peso en etanol; la temperatura se mantuvo entre 89.9 y 90.1°C.

Para trabajar a 80°C se usó una solución 67% en peso en etanol, manteniéndose la temperatura entre 79.9 y 80.2°C.

Para hacer estas soluciones se utilizó etanol de - 96% de densidad 0.8043 g/ml. obtenida experimentalmente. A continuación se indican las cantidades de etanol y -- agua para hacer 100 g. de estas mezclas (Tabla 5).

TABLA 5

## Mezclas de etanol y agua

| <u>% en peso<br/>de etanol</u> | <u>g.de<br/>etanol</u> | <u>ml.de eta-<br/>nol de 96%</u> | <u>g.de<br/>agua</u> | <u>ml.de<br/>agua</u> | <u>Temp.de<br/>ebullición</u> |
|--------------------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------------|
| 10                             | 10                     | 13                               | 90                   | 90                    | 89.9-90.1°C                   |
| 67                             | 67                     | 87                               | 33                   | 33                    | 79.9-80.2°C                   |

En las tablas 6 y 7 se indican las condiciones en las que se realizaron los experimentos con DTF y PTG -- así como el valor de la constante de velocidad para cada uno de ellos.

TABLA 6

Condiciones en que se estudió la cinética de  
N-p-toluil-D-glucosilamina y valores de la  
constante de velocidad (k)

| Exp. | Objeto                            | Temp.<br>°C | PTG<br>(a) | AcOH<br>(a) | Agua<br>(a) | % de<br>reacción | k<br>lt/mol·seg      |
|------|-----------------------------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------------|----------------------|
| 1    | efecto<br>de azúcar               | 98          | 0.04181    | 0.369       | -           | 78               | $7.7 \times 10^{-3}$ |
| 4    | efecto<br>de azúcar               | 98          | 0.02063    | 0.369       | -           | 73               | $2.0 \times 10^{-2}$ |
| 6    | efecto<br>de azúcar               | 98          | 0.08362    | 0.369       | -           | 44               | $1.9 \times 10^{-3}$ |
| 8    | efecto<br>del ácido               | 98          | 0.04209    | 0.738       | -           | 59               | $4.5 \times 10^{-3}$ |
| 10   | efecto<br>del ácido               | 98          | 0.04183    | 0.193       | -           | 45               | $2.8 \times 10^{-3}$ |
| 13   | efecto<br>de temp.                | 90          | 0.04205    | 0.738       | -           | 28               | $2.1 \times 10^{-3}$ |
| 15   | efecto<br>de temp.                | 80          | 0.04205    | 0.738       | -           | 28               | $8.1 \times 10^{-3}$ |
| 17   | efecto<br>del solv.               | 98          | 0.04195    | -           | -           | 16               | $6.0 \times 10^{-5}$ |
| 19   | efecto<br>del agua                | 98          | 0.04233    | -           | 2.7         | 17               | $5.6 \times 10^{-5}$ |
| 21   | efecto<br>del agua                | 98          | 0.04195    | -           | 5.5         | 19               | $4.9 \times 10^{-5}$ |
| 23   | efecto<br>del agua                | 98          | 0.04198    | -           | 11.1        | 18               | $3.5 \times 10^{-5}$ |
| 25   | efecto<br>del agua y<br>del ácido | 98          | 0.04197    | 0.738       | 5.5         | 29               | $6.2 \times 10^{-4}$ |

(a) concentración en moles/lt.

TABLA 7

Condiciones en que se estudió la cinética de  
l-desoxi-l-p-toluidina-D-fructosa y valores  
de la constante de velocidad (k)

| Exp. | Objeto                            | Temp.<br>°C | DTF<br>(a) | AcOH<br>(a) | Agua<br>(a) | % de<br>reacción | k<br>lt/mol·seg      |
|------|-----------------------------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------------|----------------------|
| 2    | efecto<br>del azú-<br>car         | 98          | 0.04446    | 0.369       | -           | 77               | $7.3 \times 10^{-6}$ |
| 3    | efecto<br>del azú-<br>car         | 98          | 0.04475    | 0.369       | -           | 63               | $6.9 \times 10^{-6}$ |
| 5    | efecto<br>del azú-<br>car         | 98          | 0.02230    | 0.369       | -           | 80               | $1.2 \times 10^{-5}$ |
| 7    | efecto<br>del azú-<br>car         | 98          | 0.08944    | 0.369       | -           | 81               | $4.3 \times 10^{-6}$ |
| 9    | efecto<br>del ácido               | 98          | 0.04453    | 0.738       | -           | 85               | $1.4 \times 10^{-5}$ |
| 11   | efecto<br>del ácido               | 98          | 0.04483    | 0.193       | -           | 83               | $1.0 \times 10^{-6}$ |
| 14   | efecto<br>de temp.                | 90          | 0.04479    | 0.738       | -           | 82               | $7.7 \times 10^{-6}$ |
| 16   | efecto<br>de temp.                | 80          | 0.04501    | 0.738       | -           | 71               | $5.4 \times 10^{-6}$ |
| 18   | efecto<br>del solv.               | 98          | 0.04453    | -           | -           | 80               | $7.2 \times 10^{-6}$ |
| 20   | efecto<br>del agua                | 98          | 0.04483    | -           | 2.7         | 71               | $4.3 \times 10^{-6}$ |
| 22   | efecto<br>del agua                | 98          | 0.04486    | -           | 5.5         | 70               | $5.1 \times 10^{-6}$ |
| 24   | efecto<br>del agua                | 98          | 0.04453    | -           | 11.1        | 74               | $6.6 \times 10^{-6}$ |
| 26   | efecto<br>del agua y<br>del ácido | 98          | 0.04475    | 0.738       | 5.5         | 79               | $8.9 \times 10^{-6}$ |

(a) concentración en moles/lt.

### III.- CALCULOS Y RESULTADOS

A continuación se presentan los cálculos y los resultados de la descomposición del N-p-toluidil-D-glucosilamina (PTG) en 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa (DTF), el cual a su vez se descompone en diferentes sustancias del tipo de aldehidos  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturados, compuestos dicarbonilo y reductonas (pág. 4). Esta reacción consecutiva (13) se representa como sigue:



X representa sustancias del tipo mencionadas anteriormente, es decir, los compuestos en los cuales se descompone el DTF.

La transformación de PTG en DTF es rápida, en cambio el DTF pasa a X lentamente, por lo que el valor de  $k_1$  es mucho mayor que  $k_2$ .

En esta sección se discuten simultáneamente la transformación de PTG en DTF y DTF en X. El estudio comprende: (A) orden en azúcar, (B) catálisis ácida, (C) efecto del agua y (D) efecto de la temperatura.

#### A.- Orden en azúcar

Para determinar el orden de reacción se procedió como si se tratase de dos reacciones individuales, en

virtud de que el cambio de PTG a DTF es rápido y el cambio de DTF a X es muy lento. Se utilizó el método gráfico. (2).

1).- Orden en PTG

La reacción es de segundo orden con respecto al PTG. Al graficar  $1/c$  contra el tiempo se obtiene una línea recta cuya pendiente es igual a la constante de velocidad  $k$  con unidades de  $lt\ mol^{-1}\ seg^{-1}$ . El valor de  $c$  corresponde a la concentración del PTG en moles/lt para un tiempo dado.

Los valores de  $k$  obtenidos por el método gráfico para los tres experimentos en que se usaron diferentes concentraciones iniciales de PTG permaneciendo la temperatura y la concentración del ácido acético (AcOH) constante; se dan a continuación:

TABLA 8A

Efecto de la concentración inicial de PTG en el valor de  $k$

| <u>Exp.</u> | <u>Concentración inicial de PTG (moles/lt)</u> | <u><math>k \times 10^{-2} (lt\ mol^{-1}\ seg^{-1})</math></u> |
|-------------|--|---|
| 4           | 0.02073  | 2.0   |
| 1           | 0.04181  | 0.77  |
| 6           | 0.08363  | 0.19  |

La variación de la constante cinética  $k$  al va--

riar la concentración inicial del PTG, tal vez se deba a la formación de un complejo, el cual se descompone -- lentamente a DTF a medida que aumenta la concentración de PTG.

Por el método de Wilkinson (16) también se obtiene que es una reacción de segundo orden en PTG. Este método consiste en graficar  $t/p$  contra  $t$ , obteniéndose una línea recta, cuya pendiente multiplicada por dos da el orden de reacción, la intersección representa  $1/K$  (figura 3).  $t$  es el tiempo en segundos;  $p$  es la fracción completada que es igual a  $(1 - \alpha)$  y esto a su vez es igual a  $(1 - c/c_0)$ ;  $c$  es la concentración final del PTG en moles/lt;  $c_0$  es la concentración inicial del PTG en moles/lt;  $K$  es igual a la constante cinética ( $k$ ) multiplicada por  $c_0^{(n-1)}$ ;  $n$  es el orden de reacción. Para los datos del experimento 1 se obtiene de la pendiente

$$n = (2) (1.1) = 2.2$$

que es aproximadamente 2; y de la intersección que es 3800 seg. se obtiene el valor de  $K$  que es 0.0002631 - -  $\text{seg}^{-1}$ , y el valor de la constante de velocidad ( $k$ ) es:

$$k = \frac{K}{c_0^{n-1}} = \frac{0.0002631}{0.04131} = 0.00629 \text{ lt mol}^{-1} \text{ seg}^{-1}$$

El valor obtenido por este método difiere del valor obtenido por el método gráfico que es  $0.0077 \text{ lt mol}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ .

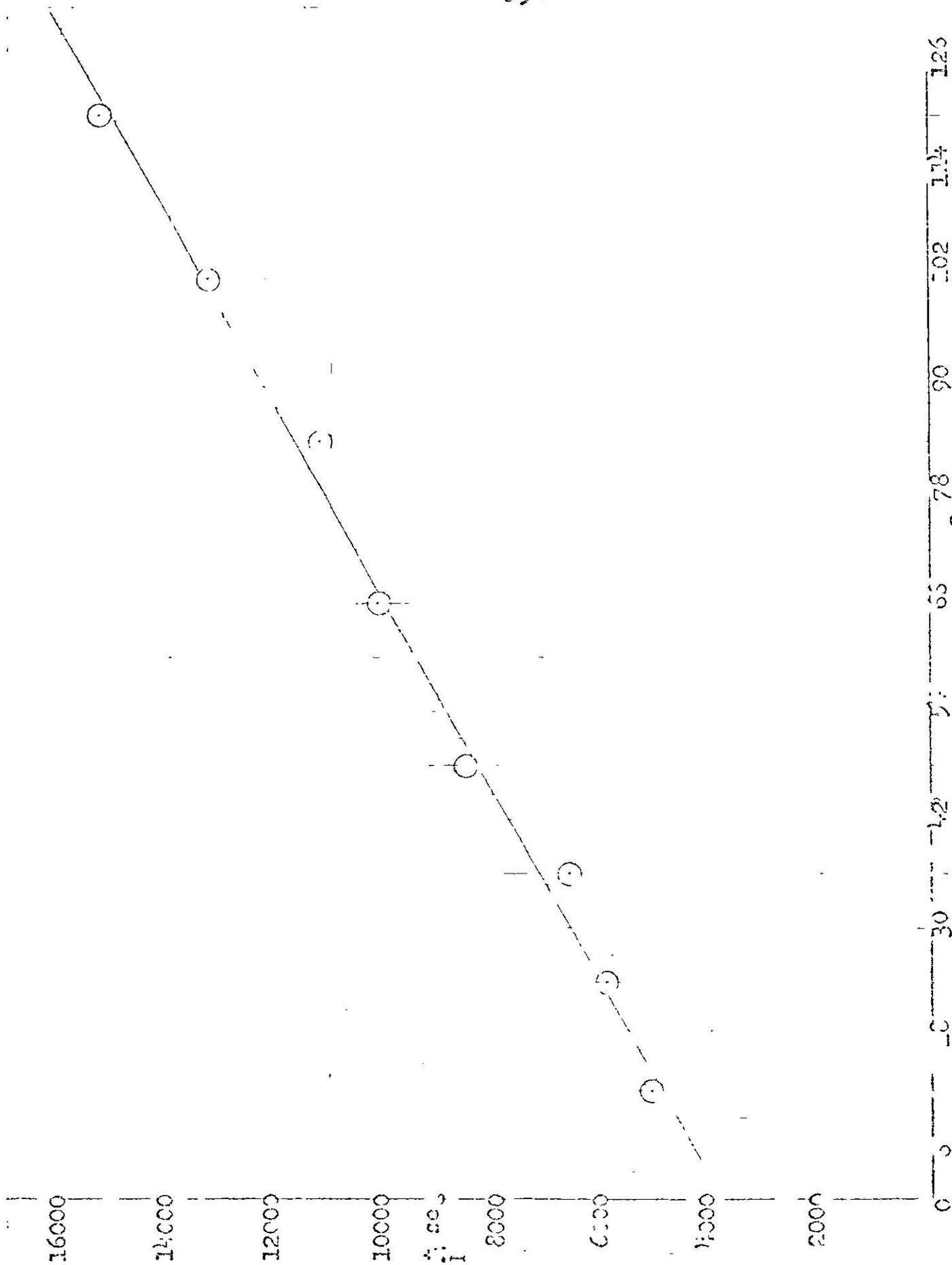


Fig. 3. Método de Wilkinson para determinar el ciclo de rotación en PFG Exp. 1.

Se prefirió tomar los valores obtenidos por el método gráfico para  $k$  ya que el método de Wilkinson no es muy exacto por las aproximaciones inherentes del método.

2).- Orden en DTF

La reacción de descomposición del DTF es de -- primer orden con respecto a éste.

Al trazar una gráfica de logaritmo decimal de  $c$  contra el tiempo en segundos se obtiene una línea rec $\underline{c}$ ta cuya pendiente multiplicada por  $-2.303$  es igual a  $k$  en unidades de  $\text{seg}^{-1}$ . El valor de  $c$  corresponde a la concentración de DTF en moles/lt para un tiempo dado(2).

Los valores de  $k$  para los tres experimentos en que se usaron diferentes concentraciones iniciales de DTF son:

TABLA 8B.

Efecto de la concentración inicial de DTF en el valor de  $k$

| <u>Exp.</u> | <u>Concentración inicial de DTF (moles/lt)</u> | <u><math>k \times 10^{-5} (\text{seg}^{-1})</math></u> |
|-------------|--|--|
| 5           | 0.02230  | 1.2  |
| 2           | 0.04460  | 0.73   |
| 7           | 0.08944  | 0.43   |

La variación de los valores de  $k$  se explican - en la misma forma que para el caso del PTG.

## B.- Catálisis General Acida

Se hicieron tres experimentos a concentraciones diferentes de ácido acético (AcOH), manteniendo la temperatura y la concentración del PTG o del DTF constante, según sea el caso, para determinar el orden en ácido -- por el método gráfico.

La reacción de descomposición del PTG es de primer orden en AcOH, y de segundo orden en AcOH en la descomposición de DTF. Estos valores se obtuvieron trazando una gráfica de logaritmo decimal de la constante de velocidad ( $\log k$ ) contra el logaritmo decimal de la concentración de AcOH ( $\log \text{AcOH}$ ) en moles/lit, obteniéndose una línea recta cuya pendiente es igual al orden en ácido acético y su intersección es igual al logaritmo decimal de la constante verdadera, ya que en realidad la -- constante cinética k obtenida en la parte A representa aparentemente una constante de seudoprimer orden para el DTF y de seudosegundo orden para el PTG, así pues:

$$\text{constante aparente} = \text{constante verdadera} (\text{AcOH})^m$$

$$k = k' (\text{AcOH})^m$$

$$\log k = \log k' + m \log (\text{AcOH})$$

Para cada compuesto se construyeron gráficas diferentes. Los datos utilizados se indican en las tablas

9A y 9B; en ellas puede apreciarse que el valor de  $k$  aumenta a medida que es mayor la concentración de AcOH.

TABLA 9A.

Experimentos con PTG. Efecto del AcOH en el valor de  $k$

| <u>Exp.</u> | $\frac{k \times 10^{-2}}{\text{lt mol}^{-1} \text{seg}^{-1}}$ | <u>log k</u> | <u>AcOH moles/lt</u> | <u>log(AcOH)</u> |
|-------------|---|--------------|----------------------|------------------|
| 8           | 1.0   | -2.0000      | 0.738                | -0.1319          |
| 1           | 0.77  | -2.1135      | 0.369                | -0.3330          |
| 10          | 0.28  | -2.5528      | 0.193                | -0.7144          |

TABLA 9B.

Experimentos con DTF; Efecto del AcOH en el valor de  $k$

| <u>Exp.</u> | $\frac{k \times 10^{-5}}{\text{seg}^{-1}}$ | <u>log k</u> | <u>AcOH moles/lt</u> | <u>log(AcOH)</u> |
|-------------|--|--------------|----------------------|------------------|
| 9           | 1.40                                       | -4.8539      | 0.738                | -0.1319          |
| 2           | 0.73                                       | -5.1367      | 0.369                | -0.3330          |
| 11          | 0.10                                       | -6.0000      | 0.193                | -0.7144          |

### C.- Efecto del Agua

Las glicosilaminas y las l-amino-l-desoxi-2-cetosas se hidrolizan en soluciones acuosas (18).

Para saber cómo afecta el agua en el valor de  $k$ , en la transposición de PTG a DTF, y en la descomposición de DTF en la reacción en la que el DTF se transforma a X; se efectuaron tres experimentos en soluciones de piridina-agua a tres concentraciones diferentes de agua y

un experimento únicamente en piridina. Los resultados obtenidos se indican en las tablas 10A. y 10B.

TABLA 10A.

Efecto del agua en la descomposición del PTG.

| <u>Exp.</u> | <u>Agua(moles/lt)</u> | <u><math>k \times 10^{-5} (\text{lt mol}^{-1} \text{seg}^{-1})</math></u> |
|-------------|-----------------------|---|
| 17          | 0                     | 6.0   |
| 19          | 2.7                   | 5.6   |
| 21          | 5.5                   | 4.9   |
| 23          | 11.1                  | 3.5   |

TABLA 10B.

Efecto del agua en la descomposición del DTF.

| <u>Exp.</u> | <u>Agua(moles/lt)</u> | <u><math>k \times 10^{-6} (\text{seg}^{-1})</math></u> |
|-------------|-----------------------|--|
| 18          | 0                     | 7.2  |
| 20          | 2.7                   | 4.3  |
| 22          | 5.5                   | 5.1  |
| 24          | 11.1                  | 6.6  |

Como se indica en la tabla 10A, a medida que aumenta la concentración del agua, el valor de  $k$  disminuye - tal vez se debe a que el PTG se hidroliza más rápido a concentraciones mayores de agua y como consecuencia se forma DTF más lentamente.

Por lo datos de la tabla 10B, se aprecia que el valor de  $k$  en piridina-agua es mayor a medida que aumenta

la concentración del agua; pero el valor de  $k$  en el experimento hecho en piridina pura es aún más grande.

Los valores de  $k$  para el PTG y DTF en soluciones de piridina-AcOH 0.738 N - agua 5.5 M se dan en la tabla 10C;  $k$  es menor que el valor obtenido en solución de piridina-AcOH 0.378 N pero es mayor que el valor obtenido en solución de piridina-agua 5.5 M; lo que prueba que esta reacción presenta catálisis ácida y no de  $H_3O^+$ ;

TABLA 10C.

Efecto del agua y AcOH en la descomposición del PTG y DTF.

| <u>Exp.</u> | <u>Concentración inicial(moles/lit)</u> | <u>k</u>   |
|-------------|---|--|
| 26          | PTG 0.04187                             | $6.2 \times 10^{-4} \text{ lit mol}^{-1}\text{seg}^{-1}$ |
| 25          | DTF 0.04475                             | $1.6 \times 10^{-5} \text{ seg}^{-1}$                    |

puesto que el ácido en presencia de agua forma  $H_3O^+$ , cuya concentración aumenta al aumentar el agua, es evidente que entre mayor cantidad de agua y más cantidad de  $H_3O^+$  hay una disminución en la velocidad de reacción, lo que prueba que el  $H_3O^+$  no es catalizador de la transposición en estudio.

TABLA 11.

Comparación de los valores de k para el PTG y el DTF.

| <u>Exp.(PTG)</u> | <u>k seg<sup>-1</sup>(PTG)</u> | <u>Exp.(DTF)</u> | <u>k seg<sup>-1</sup>(DTF)</u> |
|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|
| 4(a)             | 2.5 x 10 <sup>-4</sup>         | 5(a)             | 1.3 x 10 <sup>-5</sup>         |
| 1(a)             | 2.3 x 10 <sup>-4</sup>         | 2(a)             | 7.3 x 10 <sup>-6</sup>         |
| -                | -                              | 3(a)'            | 6.9 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 6(a)             | 1.1 x 10 <sup>-4</sup>         | 7(a)'            | 4.3 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 8(b)             | 3.1 x 10 <sup>-4</sup>         | 9(b)             | 1.4 x 10 <sup>-5</sup>         |
| 1(b)             | 2.3 x 10 <sup>-4</sup>         | 2(b)             | 7.3 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 10(b)            | 8.5 x 10 <sup>-5</sup>         | 11(b)            | 1.0 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 17(c)'           | 2.1 x 10 <sup>-6</sup>         | 18(c)'           | 7.2 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 19(c)'           | 2.0 x 10 <sup>-6</sup>         | 20(c)'           | 4.3 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 21(c)            | 2.1 x 10 <sup>-6</sup>         | 22(c)            | 5.1 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 23(c)            | 1.0 x 10 <sup>-6</sup>         | 24(c)            | 6.6 x 10 <sup>-6</sup>         |
| 25(d)            | 4.8 x 10 <sup>-5</sup>         | 26(c)            | 8.9 x 10 <sup>-6</sup>         |

(a) Efecto de la concentración inicial del azúcar en el valor de k.

(a)'Efecto de la obscuridad en el valor de k.

(b) Efecto del AcOH en el valor de k.

(c)'Efecto del solvente (piridina) en el valor de k.

(c) Efecto del agua en el valor de k.

(d) Efecto del agua y del ácido acético en el valor de k.

La descomposición del PTG es más rápida que la del

DTF, esto se muestra en la tabla 11. Para poder comparar los valores de  $k$  para el DTF y el PTG se calculó la constante de velocidad para este último como si fuera una reacción de primer orden, esto se puede hacer porque las reacciones de segundo orden pueden graficarse como reacciones de primer orden para el primer 40 ó 50% (obteniéndose una línea recta) de la reacción ya que después los puntos empiezan a desviarse de la línea (2).

#### D.- Efecto de la temperatura

Para calcular la energía de Arrhenius ( $E_a$ ), la entalpía de activación ( $\Delta H^*$ ) y la entropía de activación ( $\Delta S^*$ ) se efectuaron tres experimentos a diferentes temperaturas: 98, 90 y 80°C que corresponden a 371.15, 363.15 y 353.15°K respectivamente; manteniendo la concentración de AcOH y PTG o DTF constantes, según sea el caso.

El valor de la energía de activación de Arrhenius  $E_a$  tanto para el PTG como para el DTF se calculó trazando una gráfica de logaritmo decimal de  $k$  contra  $1/T$ , en donde  $T$  es la temperatura absoluta. El valor de  $E_a$  se obtiene a partir de la pendiente de la línea recta en la siguiente forma (2):

$$E_a = -(2.303)(R)(\text{pendiente})$$

en donde R es la constante de los gases cuyo valor es - 1.987 cal mol<sup>-1</sup> °K<sup>-1</sup>.

El valor de  $\Delta H^\ddagger$  se obtiene en la siguiente forma - (3):

$$\Delta H^\ddagger = E_a - RT$$

La entropía de activación  $\Delta S^\ddagger$  se obtiene utilizando la siguiente fórmula (2):

$$k = \frac{K_b}{h} \exp(\Delta S^\ddagger/R) \exp(-\Delta H^\ddagger/RT)$$

$K_b$  es la constante de Boltzmann  $1.38 \times 10^{-16}$  ergios/°K;  $k$  es la constante de velocidad;  $h$  es la constante de Planck  $6.625 \times 10^{-27}$  ergios segundo;  $E_a$  la energía de activación de Arrhenius en cal/mol; R es la constante de los gases  $1.987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ °K}^{-1}$ ;  $\Delta H^\ddagger$  la entalpía de activación en cal/mol y  $\Delta S^\ddagger$  la entropía de activación en  $\text{cal mol}^{-1} \text{ °K}^{-1}$ .

En las tablas 12A y 12B se dan los valores para  $E_a$ ,  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$  para el PTG y el DTF respectivamente.

TABLA 12A.

Valores de  $E_a$ ,  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$  para el PTG.

| <u>Exp.</u> | <u>Temp.</u><br><u>°K</u> | <u><math>E_a</math></u><br><u>(cal/mol)</u> | <u><math>\Delta H^\ddagger</math></u><br><u>(cal/mol)</u> | <u><math>\Delta S^\ddagger</math></u><br><u>cal mol<sup>-1</sup> °K<sup>-1</sup></u> |
|-------------|---------------------------|---|---|--|
| 8           | 371.15                    | 22423                                       | 21685   | -11.3  |
| 13          | 363.15                    | 22423                                       | 21701   | -11.4  |
| 15          | 353.15                    | 22423                                       | 21721   | -11.5  |

TABLA 12B.

Valores de  $E_a$ ,  $\Delta H^\ddagger$  y  $\Delta S^\ddagger$  para el DTF.

| <u>Exp.</u> | <u>Temp.</u><br><u>°K</u> | $E_a$<br><u>(cal/mol)</u> | $\Delta H^\ddagger$<br><u>(cal/mol)</u> | $\Delta S^\ddagger$<br><u>cal mol<sup>-1</sup> °K<sup>-1</sup></u> |
|-------------|---------------------------|---------------------------|---|--|
| 9           | 371.15                    | 14094                     | 13357                                   | -45.2  |
| 14          | 363.15                    | 14094                     | 13372                                   | -45.5  |
| 16          | 353.15                    | 14094                     | 13392                                   | -45.0  |

#### IV.- DISCUSION

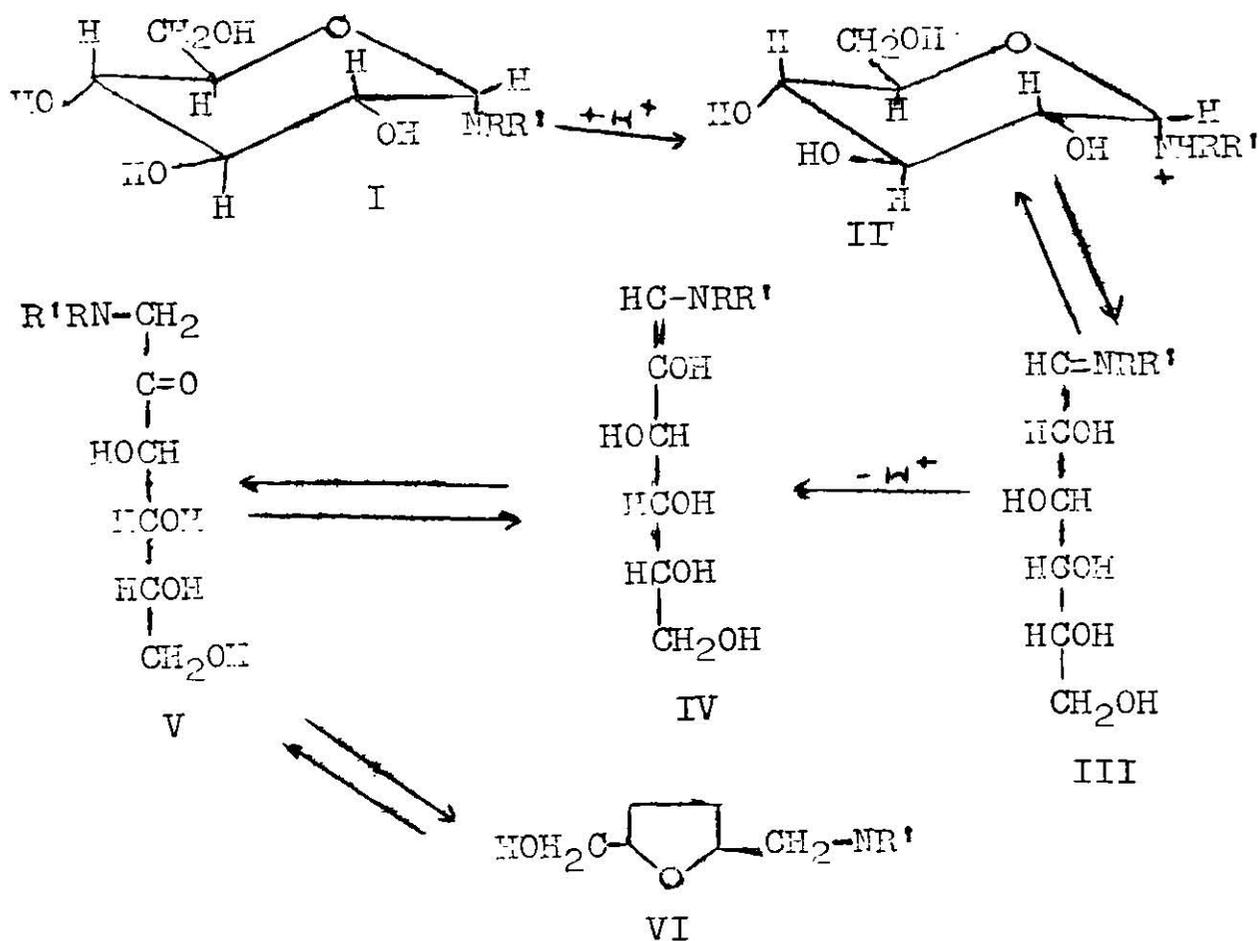
En esta sección se discuten los resultados cinéticos obtenidos en la parte III y se tratan de acomodar - en un mecanismo para el cual también se utiliza la in--formación disponible en la literatura. Primero se desarrolla el mecanismo para la descomposición de N-p-to- -luil-D-glucosilamina y después para la descomposición - de 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa.

##### A.- N-p-toluil-D-glucosilamina

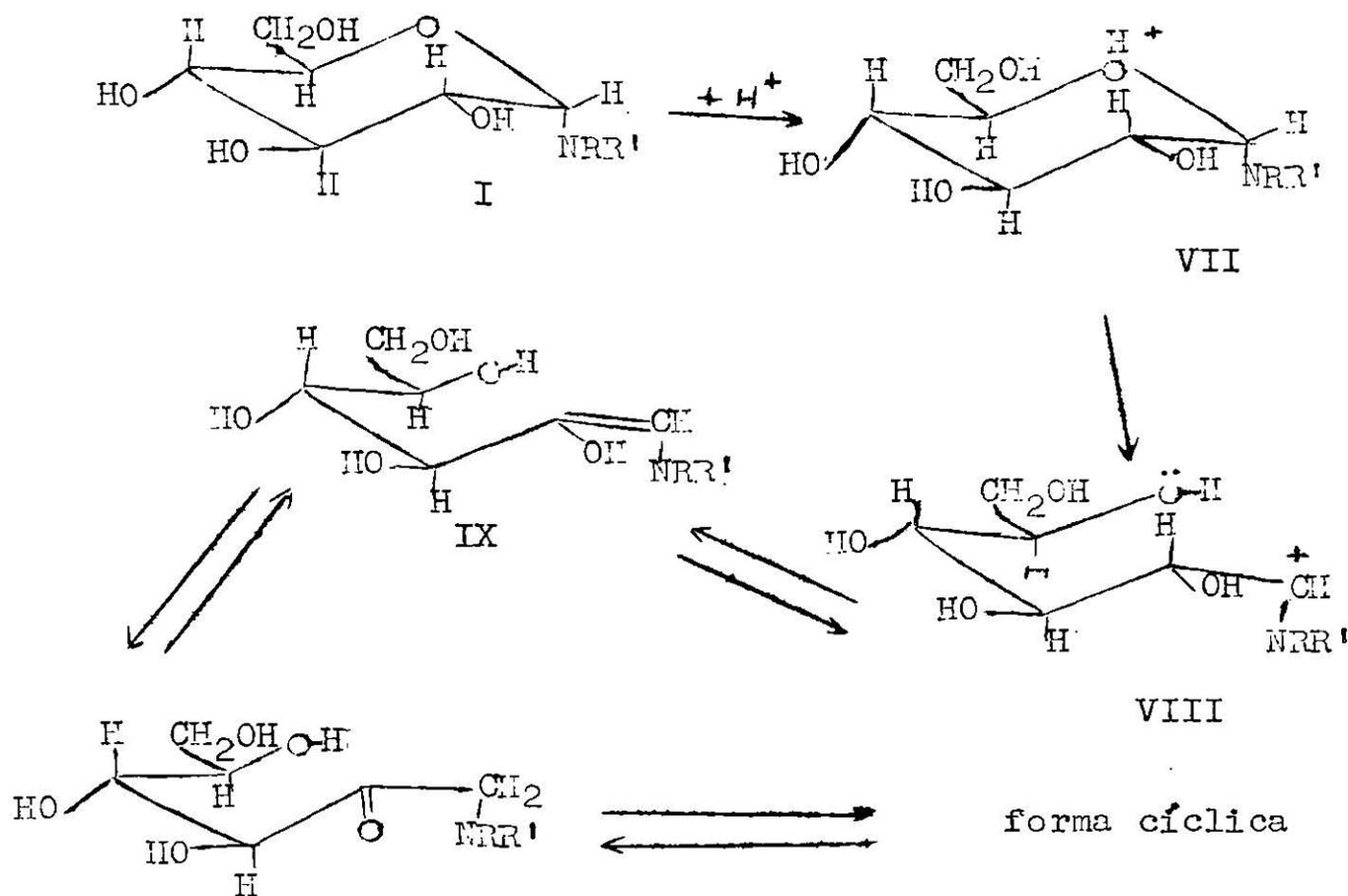
Se han propuesto varios mecanismos para explicar la transposición de Amadori, pero ninguno de ellos se ha - deducido por estudios cinéticos.

Kuhn y Weygand (18) dieron a conocer el primer mecanismo en el cual se forma como intermediario una base - de Schiff. Por los estudios que realizaron llegaron a la conclusión de que la reacción presenta una catálisis ácido-base, en la cual el protón que proviene de un ácido o de cualquier otro donador de protones, es acepta--do por el nitrógeno de la glicosilamina-N-sustituida, - para formar el ión amonio II, el cual está en equili- -brio con el catión de la base de Schiff (III), subse- -cuentemente se libera un átomo de hidrógeno del carbón 2 debido a una catálisis básica dando la amina 1,2-enó-

lica (IV), la cual por un cambio tautomérico forma la correspondiente 1-amina-1-desoxi-2-cetosa (V); probablemente este compuesto se halle en la forma más estable (VI).



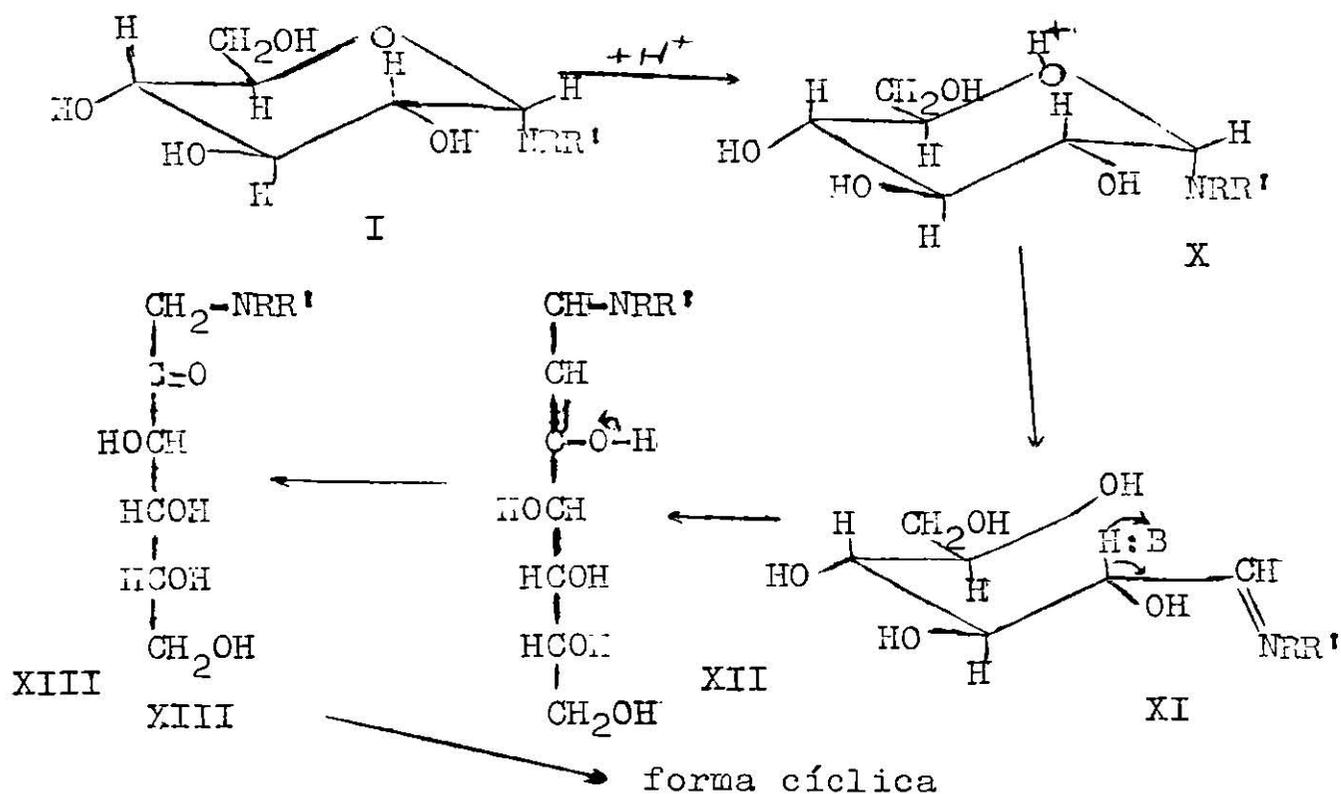
En otro mecanismo propuesto por Gottschalk (18); el protón es aceptado por el oxígeno del anillo de la glicosilamina (I) para dar el intermediario (VII):



El rompimiento del anillo del catión (VII) deja al carbón 1 cargado positivamente (VIII), habiendo flujo de electrones del carbón 2 al carbón 1 para formar el enol (IX), sin formación de la base de Schiff como lo habían propuesto Kuhn y Weygand. El mecanismo continúa formando la cetosa, la cual está en equilibrio con la forma cíclica.

Isbell y Frush (7) propusieron otro mecanismo en el cual el protón es aceptado por el oxígeno del anillo de

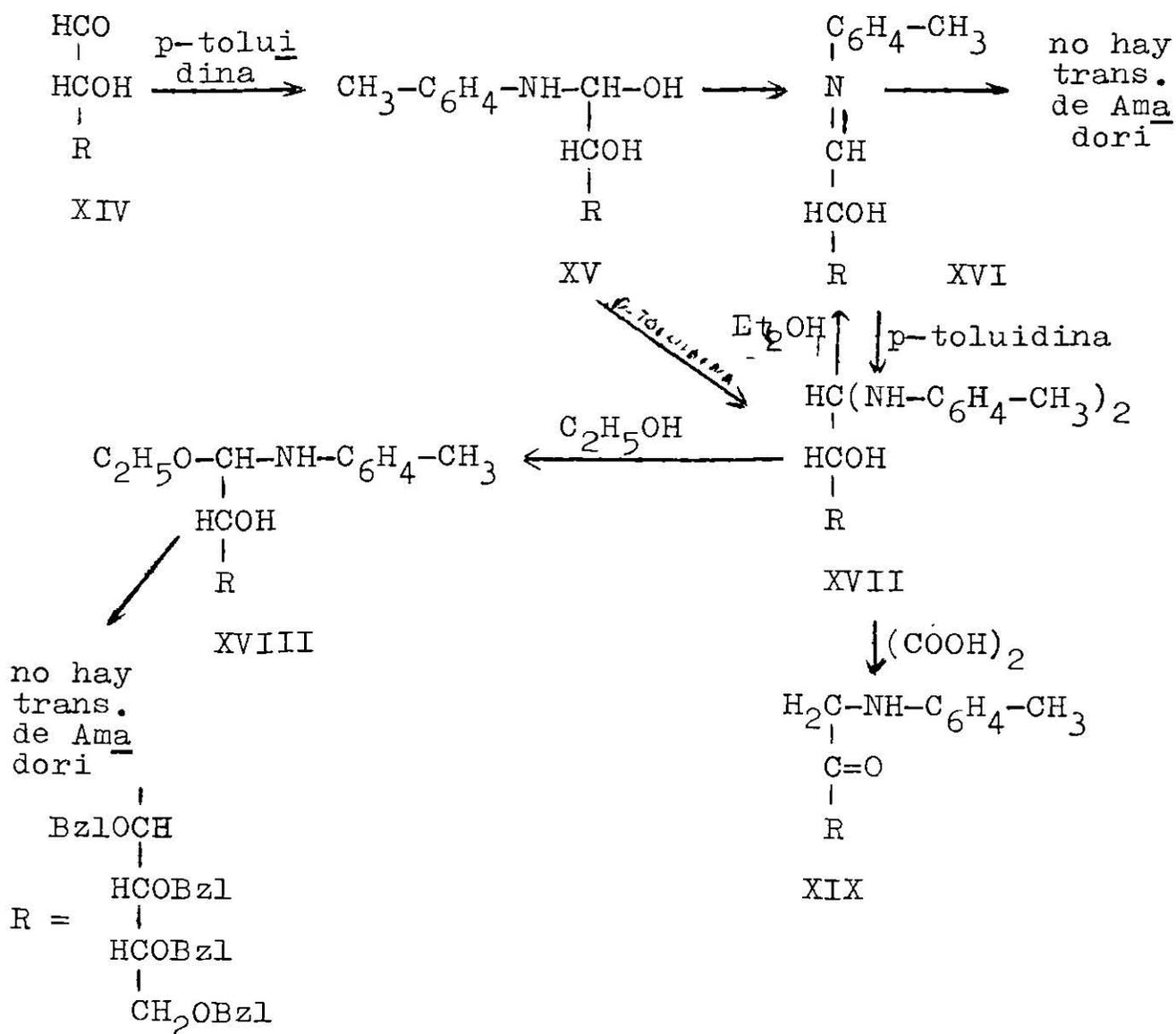
la glicosilamina en la misma forma que el mecanismo de Gottschalk (18), pero en este mecanismo no se forma el ion imonio, en cambio en el de Isbell y Frush sí.



Para la formación del ion imonio (XI) se da la siguiente explicación: la enolización del ion imonio se efectúa porque el hidrógeno del carbón 2 se elimina fácilmente debido a un flujo de electrones a través del átomo de nitrógeno, dejando al carbón 1 transitoriamente positivo, un segundo flujo de electrones del carbón 2 al carbón 1 debilita el enlace C-H del carbón 2; la eliminación del átomo de hidrógeno con un par de elec-

trones forma la amina enólica de Kuhn y Weygand (XII). Por un cambio tautomérico se forma el producto de Amadori (XIII) el cual adquiere la forma cíclica que es más estable.

Micheel y Dijon (9) trabajaron con 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa (XIV) y p-toluidina para formar la base de Schiff (XVI) y probar la hipótesis de que en la -

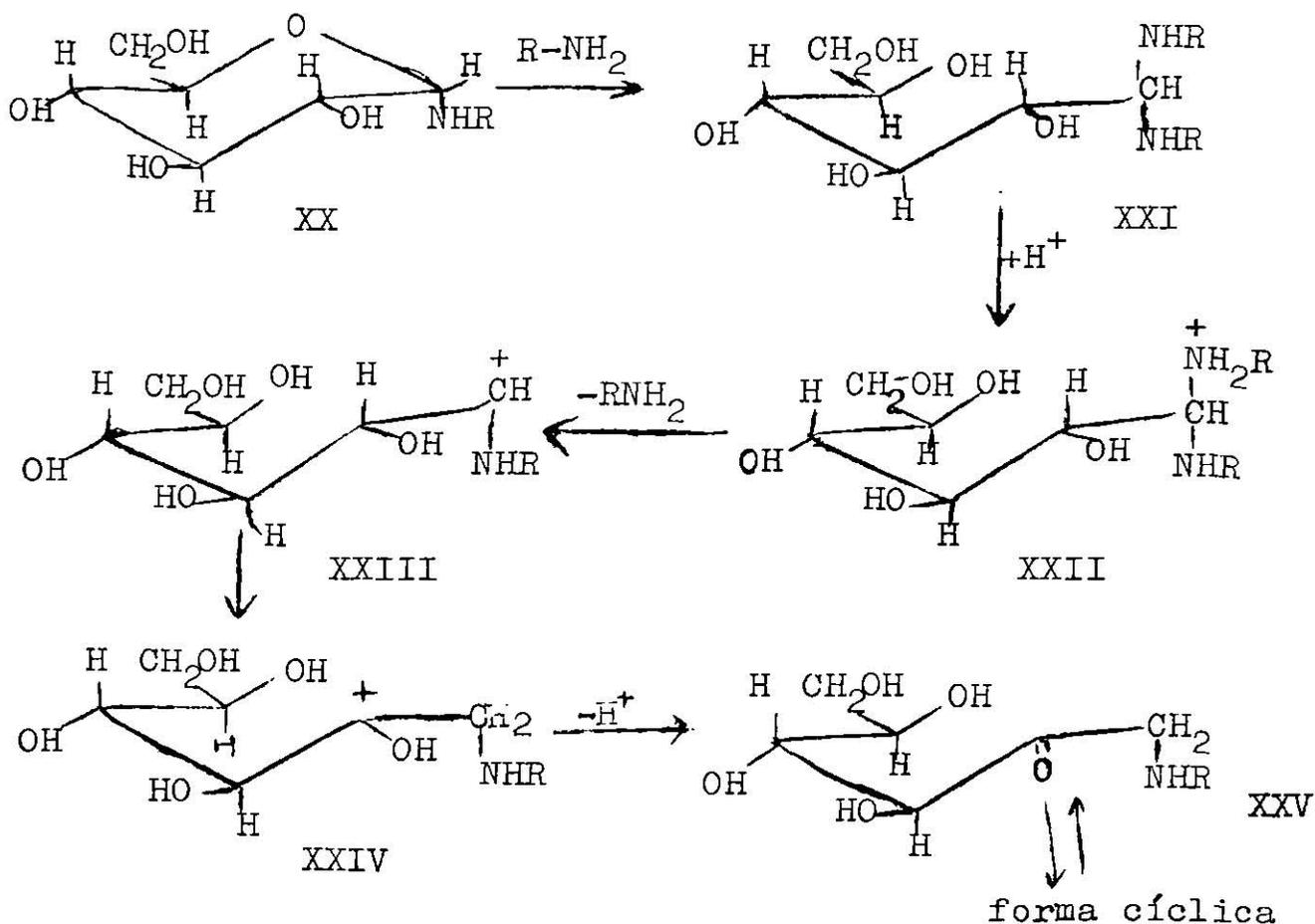


Bzl = radical benzoilo =  $\text{COC}_6\text{H}_5$

transposición de Amadori se forma este compuesto como intermediario. (XV) reaccionó con p-toluidina en dioxano para formar 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-1-desoxi-1,1-di-(p-toluidina)-D-glucosa (XVII). Al calentar lentamente (XVII) con éter etílico dio la base de Schiff (XVI), la cual puede formar de nuevo el compuesto (XVII) al reaccionar con p-toluidina. De los compuestos (XVI), (XVII) y (XVIII) calentados con ácido oxálico en las condiciones de la transposición de Amadori, solamente (XVII) -- formó el producto de Amadori 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-1-desoxi-1-(p-toluidina)-D-fructosa (XIX).

Teniendo en cuenta los resultados anteriores Micheel y Dijon postularon un mecanismo para la transposición de Amadori, en el cual no se forma la base de Schiff como intermediario (9).

Este mecanismo postula que las N-glicosilaminas se hidrolizan para dejar en libertad la amina; la otra parte de las N-glicosilaminas no cambia (XX). La amina -- reacciona con (XX) para formar 1,1-N-bis-glicósido(XXI), el cual por catálisis ácida acepta un protón para formar el catión (XXII) y liberar la amina  $\text{RNH}_2$  quedando (XXIII), éste pasa al compuesto (XXIV) probablemente mediante transferencia de hidruro del carbón 1 al carbón 2 para después formar (XXV) que es estable.



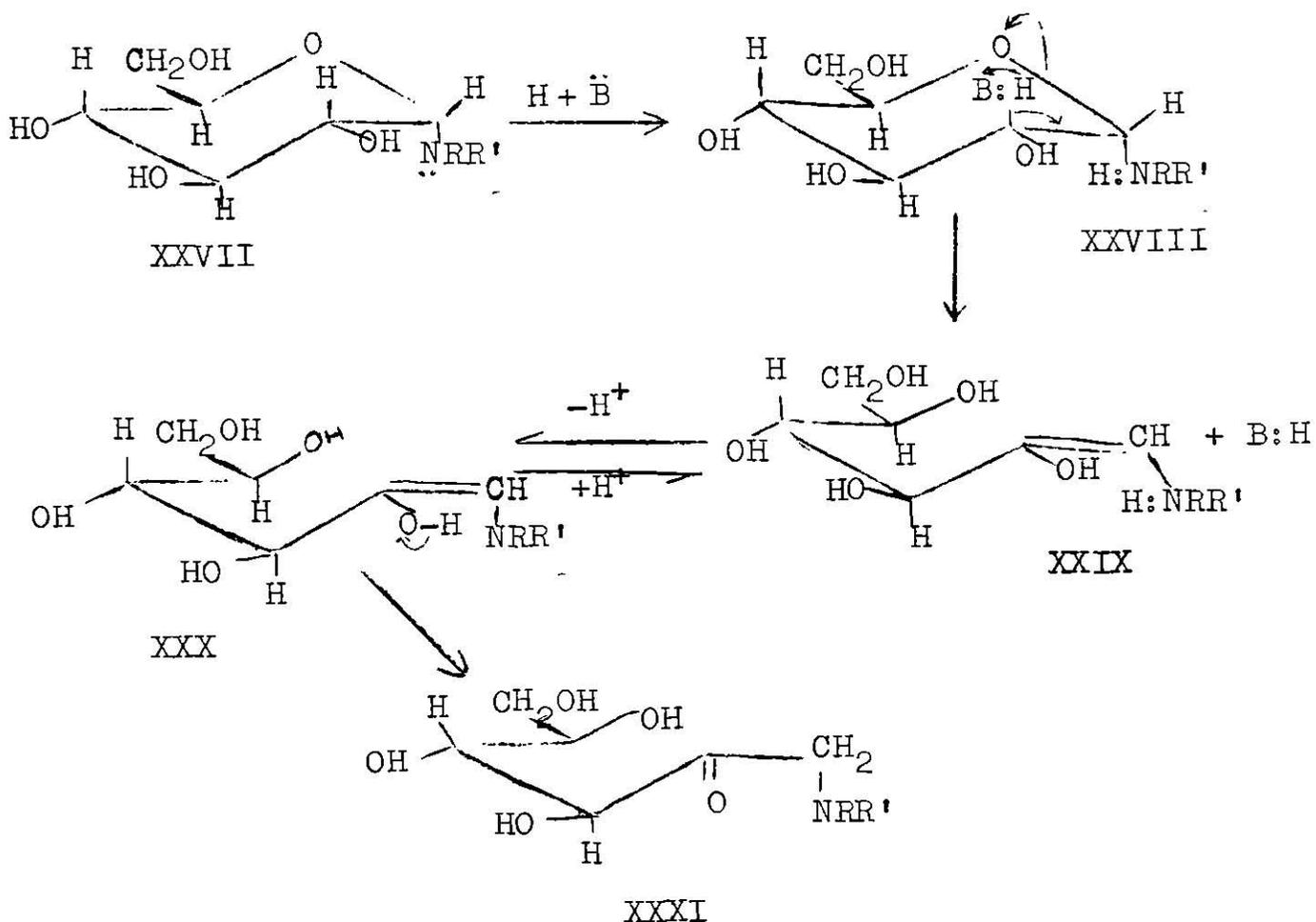
Palm y Simon (12) propusieron que el mecanismo de Micheel y Dijon no se sigue en las glicosilaminas que contienen oxhidrilos libres. Ellos efectuaron la transposición de Amadori utilizando N-p-toluil-D-glucosilamina marcada con tritio y añadiendo p-toluidina sin marcar durante la reacción, para comprobar si en realidad se formaba el compuesto (XXI). La 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa formada tenía una actividad de 248 cuentas/min/milimol; en cambio la N-p-toluil-D-glucosilamina tenía una actividad de 245 cuentas/min/milimol; lo -

cual indicaba que no había sustitución de p-toluidina - sin marcar en el PTG marcado. Estos mismos autores indican que no hay transferencia de hidruro del carbono 2 al carbono 1 (11), pues hicieron reaccionar glucosa marcada con tritio (a) y p-toluidina (b) sin marcar en una mezcla de alcohol isopropílico-ácido acético o en dioxano-ácido acético formando 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa (c) la cual casi no contenía tritio. También efectuaron la formación de (c) haciendo reaccionar (a) y -- (b) sin marcar en alcohol isopropílico-AcOH o en dioxano-AcOH con tritio y agua notando que (c) que se producía contenía tritio y el compuesto (a) que no había reaccionado con (b) también contenía tritio.

De acuerdo con los datos obtenidos en la sección III del presente trabajo (Estudio Cinético de la Transposición de Amadori) se postula un mecanismo para la descomposición de las glicosilaminas en 1-amino-1-desoxi-2-cetosas.

En este mecanismo se observan las siguientes características:

1).- De acuerdo con los datos obtenidos experimentalmente la reacción es bimolecular (sección III-A-1) y presenta catálisis ácido (sección III-B) - base (13).



B: es una glicosilamina como (XXVII)

El nitrógeno de la glicosilamina (XXVII) es muy básico y acepta el protón del ácido quedando positivo; al mismo tiempo hay una catálisis básica en la cual el átomo de nitrógeno de otra glicosilamina (B:) actúa como base sustrayendo del carbón 2 el hidrógeno para formar (XXIX) (reacción bimolecular); esto último se debe a -- que el enlace C-H del carbón 2 se debilita porque tien-

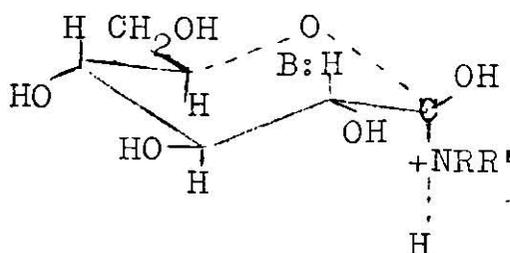
de a haber un flujo de electrones del carbón 2 al carbón 1 al quedar el nitrógeno cargado positivamente según Isbell y Frush (7); de esta forma el H del carbón 2 es aceptado fácilmente por B:

2).- No hay formación de una base de Schiff como intermediario; pues de acuerdo con el trabajo de Micheel y Dijon (9) al tratar p-toluidina con 2,4,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa (XIV) se forma la base de Schiff (XVI) pero ésta en las condiciones de la transposición de Amadori no se formó el compuesto de Amadori (XIX).

3).- El diamino compuesto (XXII) propuesto en el mecanismo de Micheel y Dijon (9) no se forma; pues Flam y Simon demostraron que no puede aplicarse a glicosilaminas que tengan oxhidrilos libres (12).

4).- No hay transferencia de hidruro del carbón 2 - al carbón 1, lo cual concuerda con el trabajo de Palm y Simon (11).

5).- Por los datos de la sección III-D se obtienen valores negativos para la entropía de activación, lo --



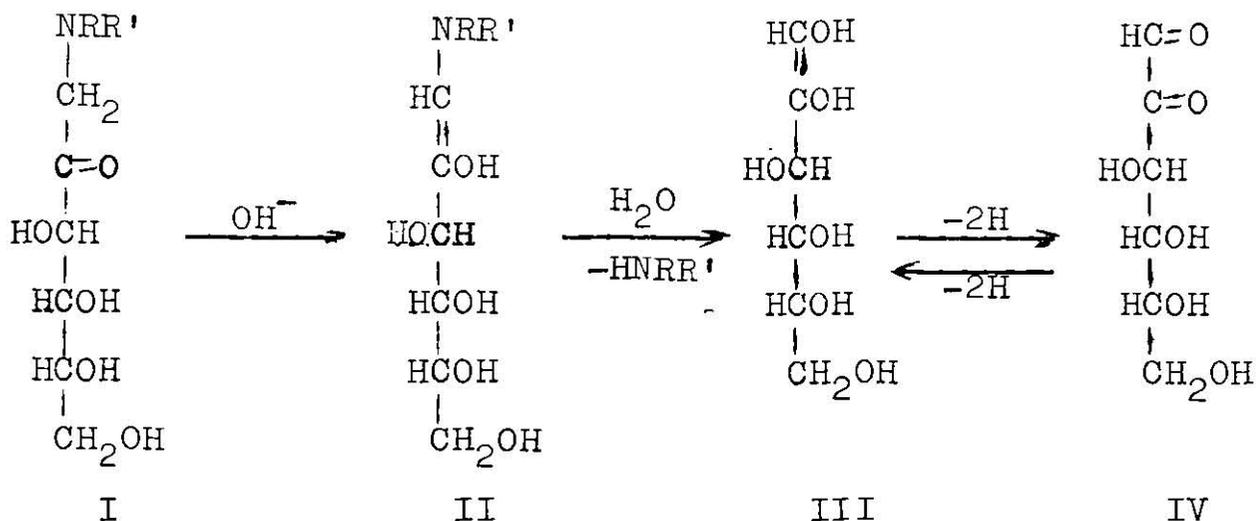
que indica que el complejo activado debe ser ordenado.

6).- La transposición de Amadori debe de efectuarse hasta cierta concentración de ácido como máximo; pues - al haber muchos protones, éstos serán aceptados por las glicosilaminas (B:) para formar B:H y no quedarían B: - sin protones para que aceptaran al protón del carbón 2 de B:H (XXVIII). Esto concuerda con la referencia 18, p. 180 en la cual se explica que al usar concentraciones grandes de ácido, no se efectúa la transposición de Amadori en las glicosilaminas.

#### B.- 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa

Las desoxiaminocetosas se descomponen en diferentes sustancias según sean las condiciones en que se encuentren.

En soluciones muy alcalinas los compuestos de Amadori forman enediones fuertemente reductores (17). La enolización 1,2 predomina en lugar de la enolización 2,3 porque se ha aislado fenilosazona y tetrahidroxibutilquinoxalina derivadas de la D-glucosona provenientes de 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa (17).

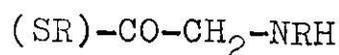


Las desoxiaminocetosas (I) en soluciones alcalinas producen la glucosona (IV) formando como intermediario el 1,2 enediol (III). (18).

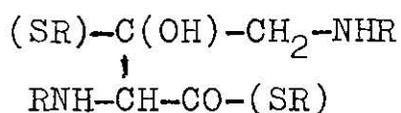
Hurd y Buess (6) explican la descomposición de las desoxiaminocetosas mediante condensaciones aldólicas. Las glicosilaminas (V), mediante la transposición de -- Amadori producen (VI); la aldolización de dos moléculas (VI) darían (VII) el cual puede deshidratarse e hidrolizarse en la  $\alpha$  dicetona (VIII), dos aldolizaciones más de este compuesto con (VI) producen (IX) y otros isómeros. También pueden formarse dicetonas por una condensación aldólica similar de (VI) con (V) pero no con dos moléculas de (V). Tricetonas vicinales como (XI) pueden provenir de (VIII) por eliminación de agua en la -- forma de aldoles, el compuesto (X) que proviene de -- (VIII) muestra que es un aldol.



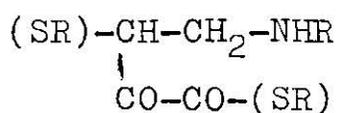
V



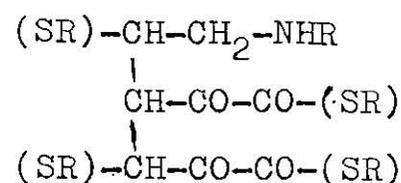
VI



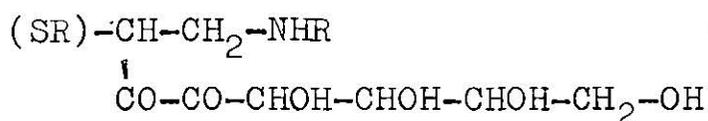
VII



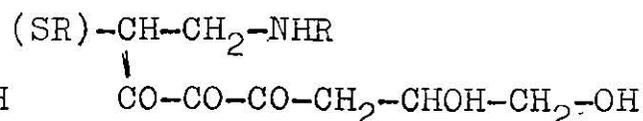
VIII



IX



X



XI

R es un radical orgánico o de aminoácido y (SR) es el residuo de la molécula del azúcar.

Es obvio que la formación de furano o pirroles a partir de estos intermediarios por medio de la ciclación puede ocurrir rápidamente. Cualquier formación de furfural, piruvaldehído o reductonas (pág. 4) que se produjera antes de la formación de los aldoles podría condensarse rápidamente con (VI) para formar la misma clase de policetonas.

Otra forma de descomposición de las desoxiaminocetosas es mediante la deshidratación (18), la cual puede efectuarse principalmente en dos formas:

1).- En presencia de sales de la amina y en el esta

do seco se forman reductonas, las cuales no se han logrado identificar, produciendo coloración café rojizo o café muy intenso (18).

2).- En condiciones ácidas en medio acuosa forman principalmente furfural y 5-hidroximetilfurfural por la pérdida de tres moléculas de agua. Gottschalk (18) demostró cromatográficamente que se producía 5-hidroximetilfurfural como uno de los principales productos de la degradación ácida de 1-amino-1-desoxi-2-cetosas; aun cuando se efectúe en condiciones muy suaves. Al tratar 1-desoxi-p-toluidina-D-fructosa con AcOH (2N) obtuvo 36% de 5-hidroximetilfurfural, con ácido clorhídrico (1N) produjo 14-18% de 5-hidroximetilfurfural y 51-52% de la amina y no obtuvo nada de azúcar.

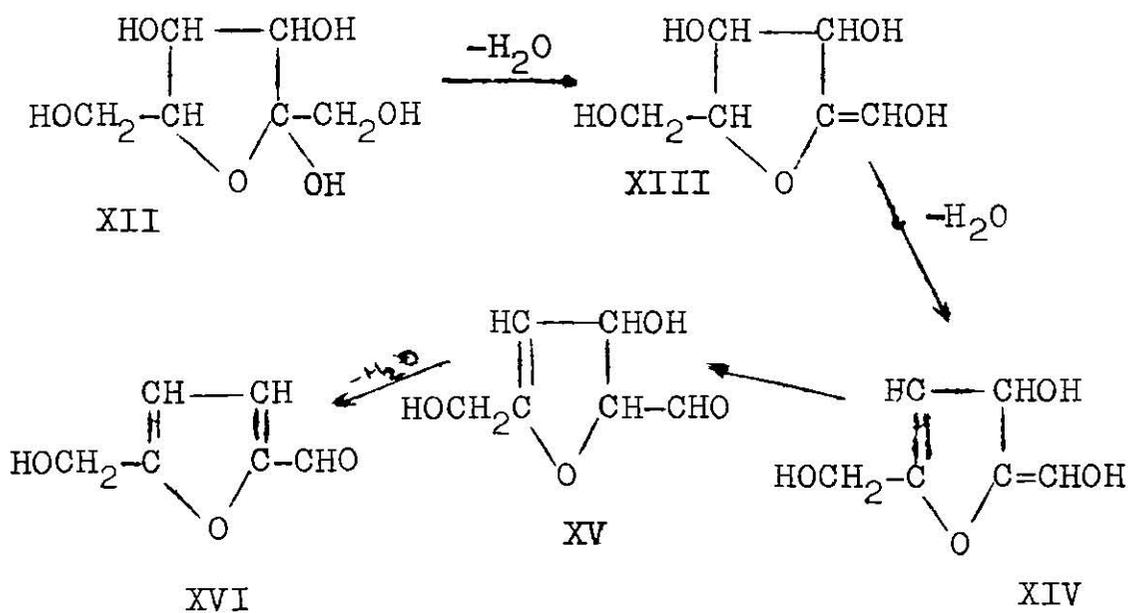
El mecanismo de esta descomposición no se conoce, es probable que se efectúe mediante deshidratación con la formación de 5-hidroximetilfurfural (por razones que se darán a conocer más adelante) en una manera similar a la descomposición de la fructosa, la cual por deshidratación en condiciones ácidas produce este derivado del furfural (17).

La producción de 5-hidroximetilfurfural es más rápida a partir de desoxiaminocetosas que a partir de fructosa en igualdad de condiciones.

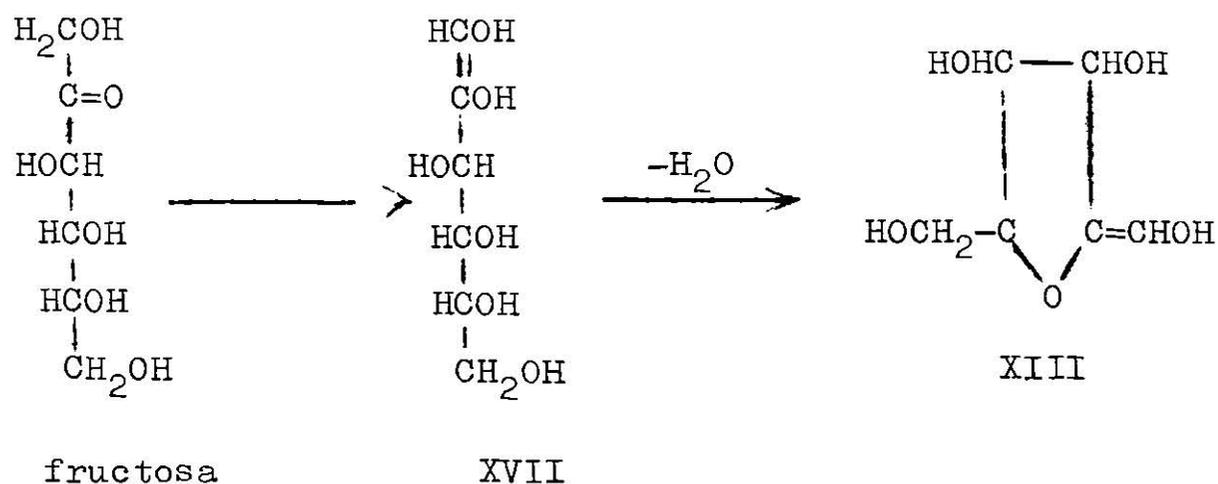
A continuación se dan a conocer los mecanismos que se han propuesto para la descomposición de la fructosa en estas condiciones, para tenerlos en cuenta en la explicación del mecanismo de la descomposición de 1-deso-xi-1-p-toluidina-D-fructosa.

Howard y Jones (17) en 1944 postularon el siguiente mecanismo suponiendo que la fructosa se encuentre en forma de anillo de furano y por la pérdida de tres moléculas de agua. En la primera deshidratación se forma el enediol XIII, por una segunda deshidratación se forma XIV el cual por un cambio tautomérico produce el aldehído XV, y éste por una tercera deshidratación forma 5-hidroximetilfurfural.

A continuación se describe el mecanismo de Howard y Jones:



Posteriormente Howard y Jones (17) propusieron otro mecanismo en el cual se efectúa primero la formación -- del 1,2-enol (XVII) en lugar de la deshidratación del -- carbón 1 y carbón 2 en la fructofuranosa (XII), después por deshidratación se forma (XIII), y el mecanismo con-



tinúa en igual forma que el anterior, es decir, hay formación de (XIV), (XV) y (XVI).

En el presente trabajo se postula un mecanismo para la descomposición de las 1-amino-1-desoxi-2-cetosas teniendo en cuenta los datos de la sección III y la información aportada por la literatura.

Como la reacción de descomposición del 1-desoxi-1-p-toluidina-D-fructosa se efectuó en condiciones ácidas, se trata de explicar el mecanismo mediante la deshidratación de este compuesto con la formación de 5-hidroxi-metilfurfural ya que es característico de las desoxiamin

nocetosas descomponerse en ese derivado del furfural al estar en medio ácido (pág. 48).

En el mecanismo que se postula se observan las siguientes características:

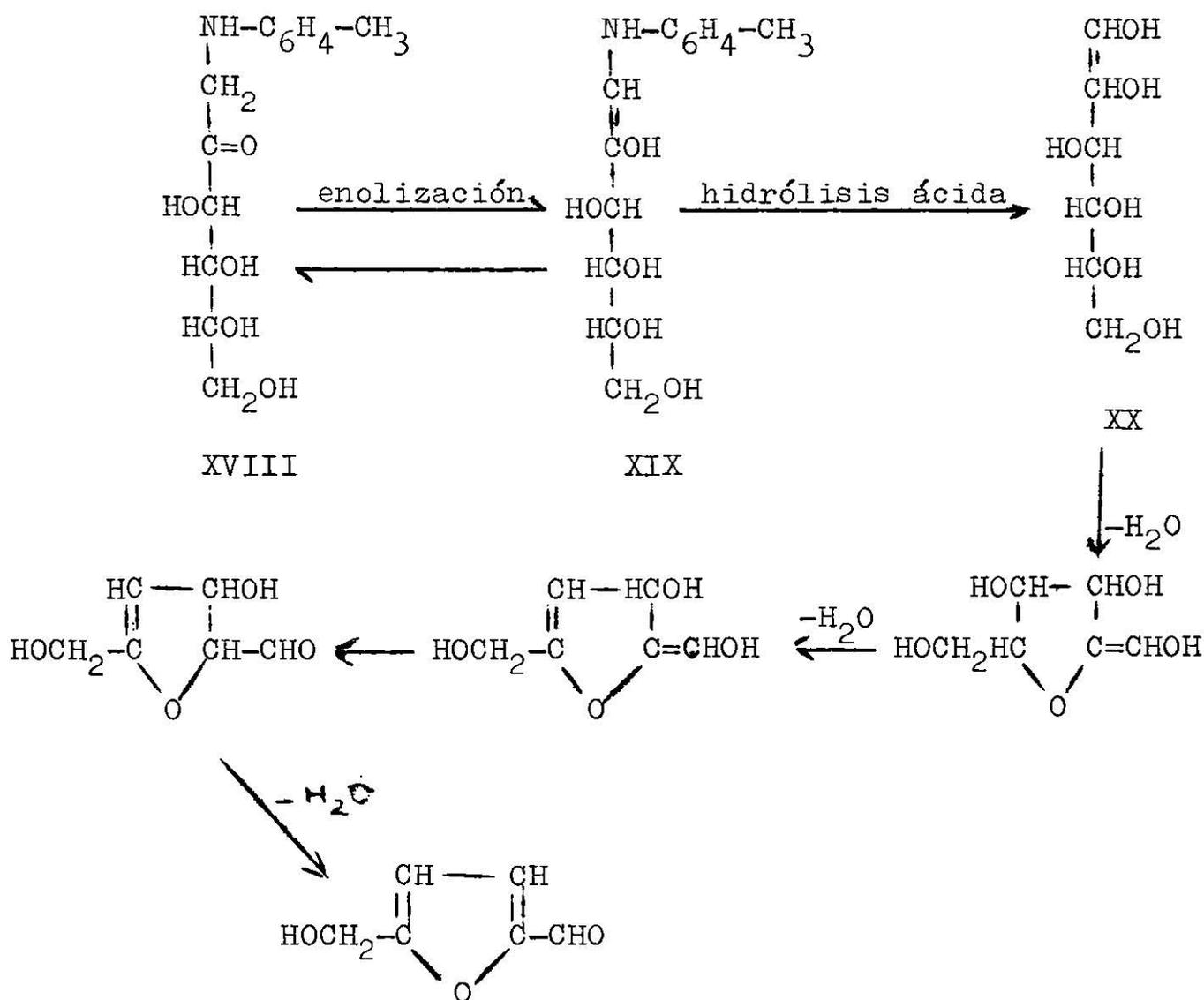
1).- De acuerdo con los datos obtenidos experimentalmente en la sección III-A-2 la reacción es de primer orden (unimolecular).

Este mecanismo no concuerda con el propuesto por Hurd y Buess (6) quienes establecieron que la descomposición de las aminodesoxicetosas se efectúa por medio de una condensación aldólica de dos moléculas de la aminodesoxicetosa lo cual viene siendo una reacción bimolecular.

2).- Como la descomposición del DTF presenta catálisis ácida (sección III-B), la formación del enediol (XX) se explica mediante una catálisis ácida; el enediol formado es igual al que forma la fructosa en el mecanismo propuesto por Howard y Jones y sigue la misma descomposición que ésta para formar 5-hidroximetilfurfural por la pérdida de tres moléculas de agua.

3).- Por los datos de la sección III-D se obtienen valores negativos para la entropía de activación, lo --

que indica que el complejo activado debe ser muy ordenado y su estructura es la de un compuesto intermedio entre (XIX) y (XX).



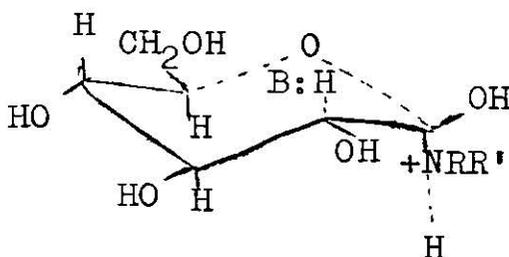
## V.- CONCLUSIONES

La descomposición de N-p-toluil-D-glucosilamina es una reacción consecutiva:



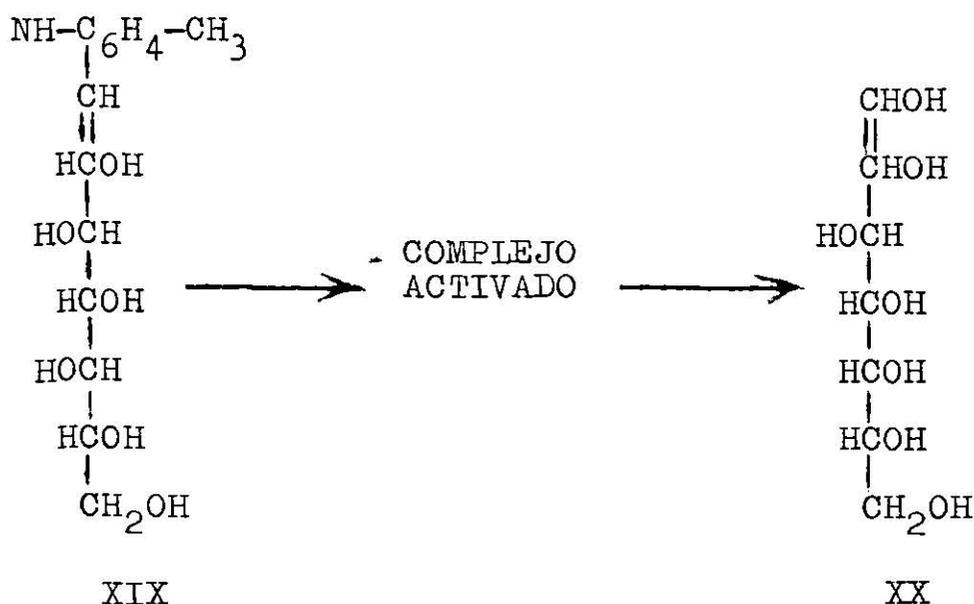
La N-p-toluil-D-glucosilamina (PTG) se descompone más aprisa que la l-desoxi-l-p-toluidina-D-fructosa -- (DTF), ya que el valor de  $k_1$  es mayor que el de  $k_2$ , esto se demuestra en la tabla 11 de la sección III.

La descomposición del PTG a DTF es una reacción bimolecular (sección III-A-I) que presenta catálisis -- ácida (sección III-B) - base (13) y no presenta catálisis de  $\text{H}_3\text{O}^+$  (sección III-C). Un valor negativo para la entropía de activación (sección III-D) indica que el -- complejo activado es ordenado (pág. 44) como se muestra enseguida:



El PTG en agua se hidroliza formando poco DTF -- (sección III-C).

La descomposición del DTF en  $X^*$  es una reacción poco conocida ya que no se sabe exactamente qué otros -compuestos se formen a partir de 5-hidroximetilfurfural como producto principal. Por el presente trabajo se sabe que es una reacción unimolecular (sección III-A-2) - que presenta catálisis ácida (sección III-B). La entropía de activación tiene un valor negativo por lo que el complejo activado es ordenado y lo es más aún que el -- formado en la descomposición del PTG en DTF; la estructura del complejo debe ser un intermediario entre (XIX) y (XX) (pág. 52) de acuerdo con el mecanismo postulado:



La velocidad de descomposición del DTF en piridina-agua aumenta al aumentar la concentración del agua - porque se hidroliza; sin embargo, la velocidad de des--composición es mayor en piridina pura.

\* Substancias desconocidas

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baynes S. y W. Holms. "N-Arylglycosylamines", J. Chem. Soc., p. 3247, (1952).
- 2.- Daniels F. y R. Alberty. "Físicoquímica". Trad. - de la 2a. Ed. Compañía Editorial Continental S. A. México, D. F. p. 336, (1963).
- 3.- Frost A. y R. Pearson. "Kinetics and Mechanism". John Wiley and Sons, Inc., p. 78, (1956).
- 4.- Hodge J. y C. Rist. "The Amadori Rearrangement -- Under New Conditions and its Significance for Nonenzimatic Browning Reactions". J. Am. Chem. Soc., 75, p. 316, (1953).
- 5.- Hodgman Ch. (editor). "Handbook of Chemistry and Physics". 3a. ed. Chemical Rubber Publishing Co., Cleveland, Ohio, p. 2115, (1954).
- 6.- Hurd Ch. y Ch. Buess. "The Browning Reactions of Sugars and Amino Acids by means of Simply Hydroxy Ketones". J. Am. Chem. Soc., 78, p. - - 5667, (1956).
- 7.- Isbell H. y H. Frush. "Mutarotation Hydrolysis -- and Rearrangement Reaction of Glycosylamines" J. Org. Chem., 23, p. 1309, (1958).

- 8.- Kuhn, R. y A. Dansi. "Über eine Molekulare Umlagerung von N-Glucosiden". Ber., 69, p. 1745, - - (1956).
- 9.- Micheel F. e I. Dijon. "Der Mechanismus der Amadori Umlagerung". Ann., 658, p. 120, (1962).
- 10.- Staněk J., M. Černý, J. Kocourek y J. Pacák. "The Monosaccharides". Publishing House of the - - Czechoslovak Academy of Sciences, Praga, p. - 458, (1963).
- 11.- Palm D. y H. Simon. "Hydride Transfer in the Amadori Rearrangement". Z. Naturforsch, 18, p. - 419, (1963).  
Citado en C. A. 59, 8844b.
- 12.- Palm D. y H. Simon. "Mechanism of the Amadori Rearrangement". Z. Naturforsch, 20b, p. 32, - - (1965).  
Citado en C. A. 63, 3023d.
- 13.- Rosen L., J. Woods y W. Pigman. "Amadori Umlagerung in Pyridin". Ber., 90, p. 1038, (1957).
- 14.- Weygand F. "Darstellung von N-Glykosiden des Anilins und Substituerten Aniline". Ber., 72, - p. 1663, (1939).

- 15.- Weygand F. "Uber N-Glykoside, II Mitteil: Amadori Umlagerungen", Ber., 73, p. 1259, (1940).
- 16.- Wilkinson R. "A Simple Method for Descompositing Rates Constants and Order of Reactions". Chem. and Ind., p. 1395, (1961).
- 17.- Newth F. H. "The Formation of Furan Compounds -- from Hexoses". Advances in Carbohydrate Chem., 6, p. 83, (1951).
- 18.- Hodge J. E., "The Amadori Rearrangement". Advances in Carbohydrate Chem., 10, p. 169, (1955).

Este trabajo se desarrolló -  
en el Laboratorio de Físico-  
química del Instituto Tecno-  
lógico y de Estudios Superior  
res de Monterrey.

