

246. Sur l'arôme de viande de bœuf grillée
II. Dihydro-6,7-5H-cyclopenta[b]pyrazines,
identification et mode de formation¹⁾

par **Ivon Flament, Margrit Kohler et Roland Aschiero**

Firmenich SA, Division de recherches, CH-1211 Genève 8

(22. VII. 76)

Identification of alkyl-5H-6,7-dihydrocyclopenta[b]pyrazines in roasted meat flavor. Model reaction used as basis for natural product formation and new synthesis. –

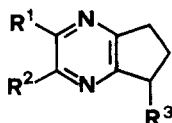
Summary. Seven alkyl-5H-6,7-dihydrocyclopenta[b]pyrazines have been identified in a roasted meat aroma obtained by thermolysis of the hydrosoluble flavor precursors of raw meat. Formation of these heterocyclics by condensation of hydroxycyclopentenones with aliphatic α -dicarbonyl compounds in the presence of ammonia has been confirmed by a model reaction.

Alkyl-5H-cyclopenta[b]pyrazines and dicyclopenta [b,e]pyrazines are also obtained from this reaction, but have not yet been identified in roasted flavors. Preparation of the intermediates of the model reaction enabled development of an economical synthesis of 2,3,5-trimethyl-5H-6,7-dihydrocyclopenta[b]pyrazine.

Introduction. – Dans un article antérieur [2] nous avons décrit la synthèse de dihydro-6,7-5H-cyclopenta[b]pyrazines alkylées. Ces composés hétérocycliques sont présents dans les arômes de nombreux aliments grillés ou torréfiés: cacahuètes [3] [4], noisettes américaines [5], thé vert [6], amandes [7], graines de sésame [8], cacao [9] et café [10]. Certains ont déjà été identifiés dans la viande de bœuf bouilli [11] et dans le foie de porc cuit sous pression [12]. Dans ce travail, nous avons préparé un arôme de viande grillée selon *Hornstein & Crowe* [13] en chauffant à 160–170° un extrait dégraissé et lyophilisé des composants hydrosolubles d'une viande bovine fraîche. L'identification de certains constituants basiques (pyrazines alkylées) a déjà fait l'objet d'une communication [1]. En attendant la publication des résultats complets de ce travail analytique, nous voudrions confirmer l'identification des quelques dihydro-6,7-5H-cyclopenta[b]pyrazines alkylées mentionnées dans le Tableau.

Divers travaux [14] ont montré que les précurseurs hydrosolubles d'arôme de viande étaient principalement composés d'acides aminés et d'hydrates de carbone. Lors du chauffage, ces précurseurs se dégradent, les acides aminés libérant de l'ammoniac et les sucres subissant une caramélisation. Parmi les produits de brunissement non enzymatique des glucides on trouve diverses hydroxycyclopenténones alkylées; *Gianturco et al.* [15] en ont par exemple identifié cinq représentants dans l'arôme de café. D'autres produits de dégradation des sucres sont des α -cétoaldéhydes ou des α -dicétones aliphatiques comme le diacétyle [16]. Il semble évident, comme l'ont observé *Walvadt et al.* [3] et *Manley et al.* [8] que des cyclopentapyrazines se forment au cours du grillage ou de la torréfaction de la plupart des aliments par suite de la condensation des hydroxycyclopenténones avec des fragments aliphatiques α -dicarbonylés, en présence d'acides aminés.

¹⁾ Partie I: voir [1].

Tableau. *Identification des dihydro-6,7-5H-cyclopenta[b]pyrazines dans des produits naturels*
 (+ = prouvée, ± = non prouvée)


R ¹	R ²	R ³	1	2	3	4	5	6	7	8	9
H	H	H	+	+	+	±	+	+	+	+	+
CH ₃	H	H	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H	H	CH ₃	+	+	+	+	+		+	±	+
CH ₃	CH ₃	H		+			+	+	+		
{ CH ₃ H	H	CH ₃	+	+		±	+	+	+	±	+
	CH ₃	CH ₃									
C ₂ H ₅	CH ₃	H					+	+	+		
CH ₃	CH ₃	CH ₃							+		

1: Cacahuètes [3] [4]	4: Graines de sésame [8]	7: Café [10]
2: Noix américaines [5]	5: Amandes grillées [7]	8: Bœuf bouilli [11]
3: Thé vert grillé [6]	6: Cacao [9]	9: Foie de porc cuit [12]

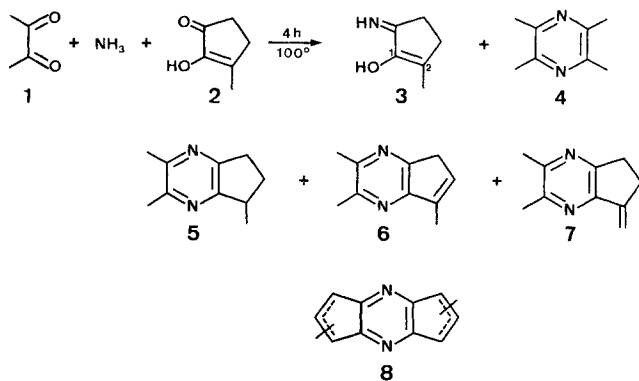
Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons mis au point une réaction modèle au départ de quelques produits de dégradation des précurseurs d'arômes: la triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5H-cyclopenta[b]pyrazine se forme aisément par condensation de la butanedione-2,3 (diacétyl; **1**) et de l'hydroxy-2-méthyl-3-cyclopentène-2-one-1 (nussol; **2**) en milieu ammoniacal. Les autres homologues mentionnés dans le Tableau résulteraient donc de la combinaison de glyoxal, d'aldéhyde pyruvique, de butanedione-2,3 et de pentanedione-2,3 avec l'hydroxy-2-cyclopentène-2-one-1 ou avec le nussol lui-même.

Une cyclopenta[b]pyrazine et plusieurs dicyclopenta[b,e]pyrazines dans divers états d'oxydation ayant également été identifiées parmi les produits de la réaction modèle, il semble vraisemblable que ces produits soient également présents dans les arômes d'aliments cuits ou grillés. Les 5H-cyclopenta[b]pyrazines dont nous décrivons ailleurs la synthèse [17] sont des produits caractéristiques, nettement plus puissants que leurs homologues dihydrogénés. Quant aux dicyclopenta[b,e]pyrazines, elles sont simplement mentionnées dans un brevet concernant l'aromatisation des

aliments [18]. Une étude des produits intermédiaires de la réaction modèle a également permis de développer un nouveau procédé de synthèse: la triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine peut être préparée avec un rendement nettement supérieur à celui obtenu en utilisant la méthode précédemment décrite [2].

Etude de la réaction de la butanedione-2,3 (diacétyle) sur l'hydroxy-2-méthyl-3-cyclopentène-2-one-1 (nussol) en milieu ammoniacal. – Par chauffage à 100° en solution ammoniacale concentrée d'une quantité équimolaire de diacétyle (**1**) et de nussol (**2**) on obtient un mélange complexe de produits azotés mono-, bi- et tricycliques (*Schéma 1*). On trouve d'abord un produit de condensation

Schéma 1



nussol-ammoniac (1:1): l'imino-5-méthyl-2-cyclopentène-1-ol-1 (**3**) qui s'avère être le produit-clé de formation des pyrazines bi- et tricycliques et dont la synthèse sélective peut être réalisée en traitant en conditions douces (50–70°) le nussol en milieu ammoniacal. Le second produit monocyclique est la tétraméthylpyrazine (**4**) dont la formation s'explique aisément (*Schéma 2*) au départ de 2 molécules d'ammoniac et 2 de diacétyle, soit selon la voie A par autocondensation de l'amino-3-butanone-2 (**10**), soit selon la voie B par condensation de ce dernier avec l'imino-3-butanone-2 (**9**). Quant aux pyrazines bicycliques qui résultent de la condensation d'une molécule de diacétyle avec 1 molécule de nussol et 2 molécules d'ammoniac, elles existent soit sous la forme de triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (C₁₀H₁₄N₂) (**5**), soit sous la forme plus oxydée (C₁₀H₁₂N₂) de triméthyl-2,3,7-5*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (**6**) et de diméthyl-2,3-méthylidène-5-dihydro-6,7-5*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (**7**). Ces composés bicycliques se forment très vraisemblablement selon la séquence de réactions formulée dans le *Schéma 3*: le nussol se condense d'abord avec l'ammoniac pour former l'imine **3**. Au cours d'un essai, nous avons isolé une trace du produit isomère, l'imino-5-méthyl-4-cyclopentène-1-ol-1 (**11**). L'imine **3** réagit avec une molécule de hydroxy-3-butanone-2 (acétoïne, forme réduite du diacétyle) et la base de *Schiff* intermédiaire **13** se cyclise après condensation avec une seconde molécule d'ammoniac pour former la pyrazine bicyclique **5**. Une oxydation ultime explique la formation des composés **6** et **7**.

Schéma 2

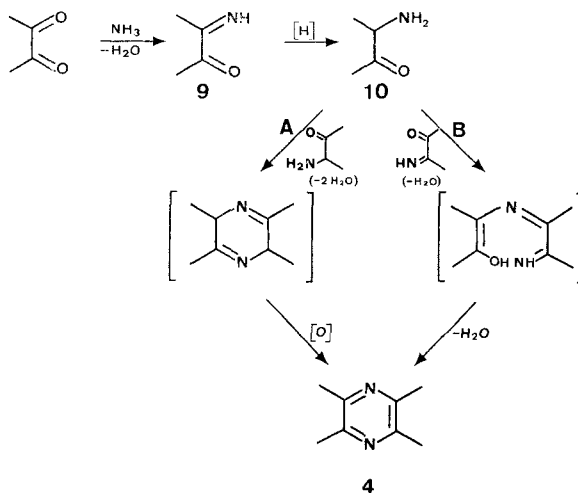
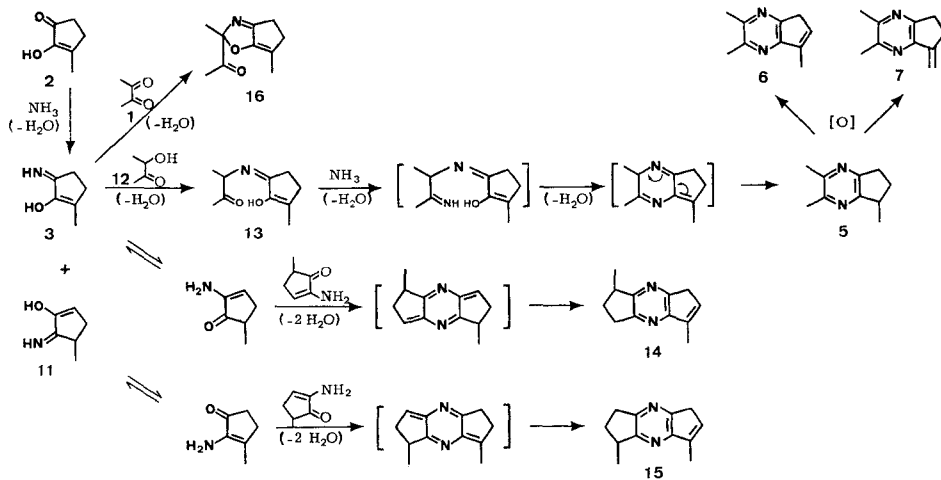


Schéma 3



Il est à remarquer que ces 5*H*-cyclopenta[*b*]pyrazines sont également obtenues, mais en faible proportion, lors de l'oxydation sur chromite de cuivre des tétrahydro-3,4,6,7-2*H*-cyclopenta[*b*]pyrazines [17]. Leur synthèse sélective par pyrolyse des acétoxy-5-dihydro-6,7-5*H*-cyclopenta[*b*]pyrazines est décrite ailleurs [17]. Ces pyrazines bicycliques présentent un intérêt organoleptique particulier car certaines possèdent, avec une puissance de 10 à 20 fois supérieure à celle de leurs homologues dihydrogénés, une note grillée particulièrement caractéristique. Leur présence dans certains arômes semble évidente au même titre que celle des autres composés formés au cours de cette réaction modèle, mais aucune identification dans un arôme n'a jusqu'à présent été mentionnée.

Enfin, la réaction formulée dans le Schéma 1 fournit au moins 3 pyrazines tricycliques (formule générale 8) dans divers états d'oxydation. La structure de ces produits n'a pas été élucidée; ils résultent très vraisemblablement d'une autocondensa-

tion des α -aminocétones formées par réaction du nussol avec l'ammoniac (**14** et **15**, Schéma 3).

On constate d'après le Schéma 3 que la condensation de l'imine **3** avec le diacétyle (**1**) provoque un blocage de la réaction avec formation d'acétyl-2-diméthyl-2,6-dihydro-4,5,2-*H*-cyclopenta[*d*]oxazole (**16**). Il est donc nécessaire de traiter l'imine **3** plutôt par l'acétoïne pour obtenir sélectivement et avec un bon rendement la triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5-*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (**5**).

Nous remercions la Direction de la maison *Firmenich SA* de l'autorisation de publier ce travail.

Partie expérimentale

1. Généralités. – Voir [2]. Le solvant employé pour enregistrer les spectres IR. est indiqué dans chaque cas. Les déplacements chimiques de la RMN. sont donnés en ppm (TMS = 0 ppm), les constantes de couplage *J* en Hz.

2. Identification de dihydro-6,7-5-*H*-cyclopenta[*b*]pyrazines alkylées dans un arôme de viande grillée. – On chauffe à 160–170°/10^{–3} Torr un extrait sec des substances hydrosolubles de viande fraîche préparé selon *Hornstein & Crowe* [13], on condense les produits volatils formés dans une série de pièges refroidis respectivement par de la glace, de la neige carbonique et de l'azote liquide et l'on obtient un mélange hétérogène jaunâtre. Après séparation des composants basiques [1] et extraction à l'éther, le résidu est distillé sous 0,2 Torr jusqu'à 150°. L'huile jaunâtre ainsi obtenue est fractionnée par chromatographie en phase gazeuse (CG.) et l'identification de ses composants réalisée par couplage avec la spectrométrie de masse [1]. L'identité des composants mentionnés dans le Tableau a été confirmée par comparaison avec les produits de synthèse dont les caractéristiques spectroscopiques ont déjà été publiées [2].

3. Condensation en solution ammoniacale de la butanedione-2,3 (1**) avec l'hydroxy-2-méthyl-3-cyclopentène-2-one-1 (**2**).** – On chauffe en tube scellé à 100° durant 4 h une solution de 8,6 g (0,1 mol) de **1** et de 11,2 g (0,1 mol) de **2** dans 40 ml d'ammoniaque concentrée. Après extraction à l'éther, les composants basiques sont séparés par lavage avec de l'acide chlorhydrique 10%, libérés par addition d'hydroxyde de sodium 10% puis extraits à l'éther. Les 5 g de produit brut sont distillés sous 9 Torr jusqu'à 120°. Le distillat (2 g) cristallise partiellement. Les cristaux sont filtrés et recristallisés dans l'hexane. Il s'agit d'imino-5-méthyl-2-cyclopentène-1-ol-1 (**3**; F: 95,2–96,2°) dont les caractéristiques spectroscopiques sont mentionnées plus loin. Le reste du distillat est analysé par CG. sur colonne capillaire (XF 1105) couplée à un spectromètre de masse *Atlas* CH4-B. Selon l'ordre d'éluion on identifie successivement les produits suivants (% de la fraction; fragments *m/e* selon intensité relative décroissante): tétraméthylpyrazine (**4**; 4,2; 54, 136, 42), **3** (2,0; 111, 82, 55), triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5-*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (**5**; 8,2; 147, 162, 161) [2], triméthyl-2,3,7-5-*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (**6**; 1,5; 160, 159, 119, 78, 118) [18], diméthyl-2,3-méthylidène-5-dihydro-6,7-5-*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (**7**; 1,7; 160, 159, 78, 118, 119) [18] et 3 pyrazines tricycliques plus ou moins insaturées représentant respectivement 36,2, 27,5 et 18,9% et dont les structures exactes n'ont pas été élucidées.

4. Synthèse de la triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5-*H*-cyclopenta[*b*]pyrazine (5**).** – 4.1. *Imino-5-méthyl-2-cyclopentène-1-ol-1 (**3**)*. A une solution chauffée à 50° de 32,6 g (0,29 mol) de nussol (**2**) dans 330 ml d'eau on ajoute en 20 min. 430 ml d'ammoniaque à 23% (6,6 mol) (opération sous azote). Après 6 h d'agitation à 50°, puis 8 h à 70° (conditions optima déterminées par contrôles CG.) le mélange est extrait au chlorure de méthylène. Après lavage à l'eau, séchage et évaporation du solvant, on purifie les cristaux résiduels par sublimation (80°/10 Torr): On obtient ainsi 18,2 g (56,5%) de **3** sous forme de cristaux blancs (F. 95,2–96,2°). Une opération effectuée sur 10 fois ces quantités a donné un rdt. de 42%. – SM.: 112 (7,0), 111 (100), 110 (11,5), 96 (9,5), 83 (14,5), 88 (66,0), 69 (6,5), 69 (28,5), 66 (6,5), 56 (7,5), 55 (43,0), 54 (28,5), 53 (7,0), 52 (8,0), 43 (15,0), 42 (22,0), 41 (14,0), 40,5 (5,0), 39 (12,5), 30 (9,5), 29 (5,0), 27 (14,5). – RMN. (CDCl₃): 1,91 (s, H₃C–C(2)), 2,34 (s, 2H–C(3) et 2H–C(4)), 3,5 (s, large, –OH et =NH). – IR. (CHCl₃): 3440 *m*, 3360 *m*, 2920 *m*, 2847 *m*, 1692 *s*, 1653 *s*, 1585 *m*, 1398 *m*, 1359 *m*, 1310 *w*, 1196 *w*, 1112 *m*.

Au cours d'un essai nous avons isolé par CG. une trace de l'isomère *imino-5-méthyl-4-cyclopentène-1-ol-1 (**11**)*. – SM.: 112 (5,5), 111 (100), 110 (4,9), 83 (17,3), 82 (67,3), 68 (22,2), 67 (7,4),

66 (11,7), 57 (4,9), 56 (10,5), 55 (32,7), 54 (32,7), 53 (4,9), 43 (7,1), 42 (18,5), 41 (45,7), 40 (5,6), 39 (11,7), 30 (6,8), 29 (6,8), 27 (14,8). – RMN. (CCl₄): 1,1 (*d*, *J* = 7, H₃C–C(4)), 1,95 et 2,70 (*d* × *m*, *J* = 16 et 4, 2H–C(3)), 2,35 (*q*, *J* = 7, H–C(4)), 3,92 (*s*, large, =NH et –OH), 6,07 et 6,13 (2*d*, *J* = 4, H–C(2)). – IR. (CCl₄): 3480*m*, 3380*m*, 2960*m*, 2930*m*, 2855*m*, 1705*s*, 1648*s*, 1582*m*, 1450*w*, 1380*m*, 1310*m*, 1268*w*, 1134*m*, 1050*w*, 1005*m*, 952*m*.

4.2. N-(Hydroxy-2-méthyl-3-cyclopentène-2-ylidène)-amino-3-butanone-2 (**13**). On chauffe 60 min. à reflux (120°) et sous azote une solution de 2,2 g (20 mmol) d'imine (**3**) dans 40 ml d'acétoïne. Par distillation on isole 3,4 g de **13**, huile jaune, Eb. 84°/0,005 Torr, rdt. 95%. – SM.: 181 (2,8), 139 (8,9), 138 (100), 137 (7,8), 96 (12,8), 85 (6,1), 68 (12,8), 55 (7,3), 43 (28,5), 41 (11,2), 39 (5,6), 27 (6,7). – RMN. (CCl₄): 1,25 (*d*, *J* = 7, 3H–C(4)), 1,96 (*s*, H₃C–C(3')), 2,08 (*s*, 3H–C(1)), 2,32 (*s*, large, 2H–C(4') et 2H–C(5')), ~3,80 (*s*, large, –OH), 4,39 (*q*, *J* = 7, H–C(3)). – IR. (liq.): 3350*m*, 2975*m*, 2920*m*, 2850*m*, 1700*s*, large, 1637*s*, 1490*m*, 1443*m*, 1400*m*, 1380*m*, 1353*s*, 1280*m*, 1248*m*, 1193*m*, 1152*s*, 1113*m*, 1087*m*.

4.3. Triméthyl-2,3,5-dihydro-6,7-5H-cyclopenta[b]pyrazine (**5**). On chauffe sous azote durant 30 min. à 80° une solution de 3,4 g (18 mmol) d'intermédiaire **13** dans 25 ml d'ammoniaque concentrée (à 26%). Après addition d'une nouvelle portion de 25 ml d'ammoniaque on poursuit le chauffage durant 2 h. Le mélange brun-rouge est saturé au sel et extrait à l'éther. Après séchage et évaporation le résidu est distillé: 1,81 g (60%) de pyrazine **5** (Eb. 105°/10 Torr), identique au produit de référence [2]. Une opération de ce type réalisée au départ de 68 g de l'intermédiaire **13** a permis de préparer 21,2 g (35%) de **5**.

4.4. Acétyl-2-diméthyl-2,6-dihydro-4,5-2H-cyclopenta[d]oxazole (**16**). On chauffe 9 h à reflux une solution de 2,7 g (21 mmol) d'imine **3** dans 20 ml de diacétyle. Par distillation on isole 3 g de produit **16** (Eb. 72–75°/0,001 Torr). – SM.: 179 (1,9), 137 (10,0), 136 (100), 94 (9,0), 67 (27,1), 65 (6,2), 55 (6,2), 53 (6,7), 43 (10,5), 41 (18,6), 39 (10,0), 27 (7,6). – RMN. (CCl₄): 1,80 (*s*, H₃C–C(2)), 1,97 (*s*, H₃C–C(6)), 2,40 (*s*, CH₃–CO), ~2,5 (*m*, 2H–C(4) et 2H–C(5)). – IR. (liq.): 3020*s*, 2920*w*, 1700 vs, large, 1650*w*, 1622*s*, 1425*m*, large, 1380*m*, 1356*s*, 1328*m*, 1296*m*, 1215*s*, 1188*m*, 1117*s*, 1092*m*, 990*m*, 750*s*, large.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] I. Flament & G. Ohloff, *Helv.* **54**, 1911 (1971).
- [2] I. Flament, P. Sonnay & G. Ohloff, *Helv.* **56**, 610 (1973).
- [3] J. P. Walradt, A. O. Pittet, T. E. Kinlin, R. Muralidhara & A. Sanderson, *J. agric. Food Chemistry* **19**, 972 (1971).
- [4] B. R. Johnson, G. R. Waller & R. L. Foltz, *J. agric. Food Chemistry* **19**, 1025 (1971).
- [5] T. E. Kinlin, R. Muralidhara, A. O. Pittet, A. Sanderson & J. P. Walradt, *J. agric. Food Chemistry* **20**, 1021 (1972).
- [6] T. Yamanishi, S. Shimojo, M. Ukita, K. Kawashima & N. Nakatani, *Agric. biol. Chemistry* **37**, 2147 (1973).
- [7] Y. Takei, K. Shimada, S. Watanabe & T. Yamanishi, *Agric. biol. Chemistry* **38**, 645 (1974).
- [8] C. H. Manley, P. O. Vallon & R. E. Erickson, *J. Food Sci.* **39**, 73 (1974).
- [9] O. G. Vitzthum, P. Werkhoff & P. Hubert, *J. Food Sci.* **40**, 911 (1975).
- [10] O. G. Vitzthum & P. Werkhoff, *J. agric. Food Chemistry* **23**, 510 (1975).
- [11] C. J. Mussinan, R. A. Wilson & I. Katz, *J. agric. Food Chemistry* **21**, 871 (1973).
- [12] C. J. Mussinan & J. P. Walradt, *J. agric. Food Chemistry* **22**, 827 (1974).
- [13] I. Hornstein & P. F. Crowe, *J. agric. Food Chemistry* **8**, 494 (1960).
- [14] O. F. Batzer, A. T. Santoro, M. C. Tan, W. A. Landmann & B. S. Schweigert, *J. agric. Food Chemistry* **8**, 498 (1960); R. L. Macy Jr., H. Naumann & M. E. Bailey, *J. Food Sci.* **29**, 136 (1964); A. F. Mabrouk, J. K. Jarboe & E. M. O'Connor, *J. agric. Food Chemistry* **17**, 5 (1969).
- [15] M. A. Gianturco, A. S. Giammarino & R. G. Pitcher, *Tetrahedron* **19**, 2051 (1963); M. A. Gianturco & P. Friedel, *ibid.* **19**, 2039 (1963).
- [16] K. Heyns & M. Klier, *Carbohydr. Res.* **6**, 436 (1968).
- [17] I. Flament, P. Sonnay, B. Willhalm & G. Ohloff, *Helv.* **59**, 2314 (1976).
- [18] A. O. Pittet & R. Muralidhara (International Flavors and Fragrances, Inc.), U.S. Pat. 3,705,121, Dec. 5, 1972.