

УДК 547.86 : 577.16 : 615.857.064.11

УСПЕХИ ХИМИИ ТИАМИНА

А. М. Юркевич

ОГЛАВЛЕНИЕ

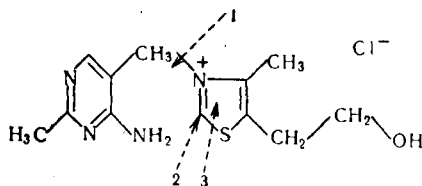
I. Введение	418
II. Реакции без расщепления тиазольного ядра	419
III. Реакции, приводящие к расщеплению тиазольного ядра	421
IV. Ацилирование тиамина и его производных	424
V. Тиамин-протеиновые комплексы	426
VI. Производные тиамина	426
VII. Развитие промышленных способов синтеза витамина В ₁	430
VIII. Механизм действия витамина В ₁	433

I. ВВЕДЕНИЕ

Развитие и совершенствование процессов производства, углубленное исследование химических свойств, наконец, расшифровка механизма действия в биохимических процессах — таковы основные направления и итоги работы за последние годы в области одного из важнейших витаминов группы В — тиамина.

Тиамин, строение которого было установлено в 1936 г., ныне ежегодно производится во многих странах мира десятками и сотнями тонн. Методы его производства постоянно совершенствуются. Известны десятки производных тиамина, обладающих различной биологической активностью и находящихся различного клинического применения. Большое значение приобрели синтез и исследования свойств аналогов тиамина, изучение которых помогло понять роль отдельных структурных фрагментов молекулы витамина. Наконец, детальное исследование химических свойств тиамина позволило синтезировать новые препараты (тиамин-пропилдисульфид, О-монофосфат S-бензоилтиамина и др.) и выяснить механизм биохимического действия витамина В₁.

Химические свойства тиамина и его производных во многом определяются чрезвычайно активной группировкой — ядром тиазолия.



Известные реакции тиамина можно отнести к двум группам: 1) реакции, протекающие без расщепления тиазольного ядра (1) и (2) и 2) реакции, которые приводят к расщеплению ядра тиазола и образованию различных производных ненасыщенного тиола (3). На схеме стрелками с цифрами показано направление атаки реагентов при различных процессах.

Рентгеноструктурный анализ тиаминхлорида, проведенный недавно¹, позволил установить интересные особенности пространственного строения витамина. На рисунке изображена проекция его простран-

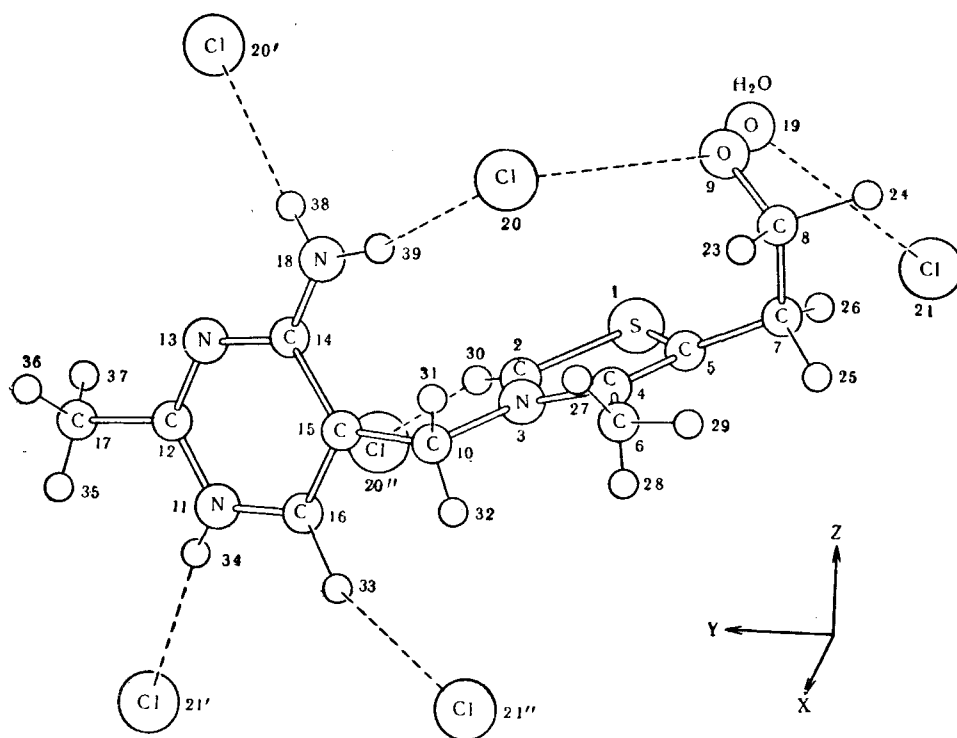


Рис. 1. Пространственная модель витамина В₁

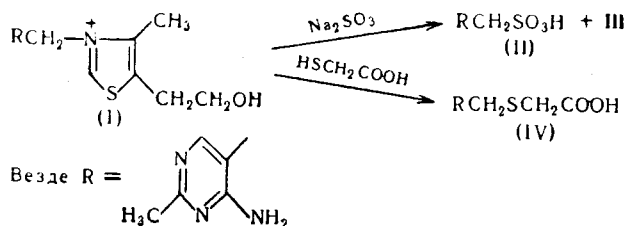
венной модели. Плоскости пиримидинового и тиазольевого ядер расположены друг относительно друга под углом 76°; такое взаиморасположение ядер приводит к тому, что второе положение тиазола не экранировано амино-группой.

II. РЕАКЦИИ БЕЗ РАСЩЕПЛЕНИЯ ТИАЗОЛИЕВОГО ЯДРА

1. Сульфитное расщепление тиамина

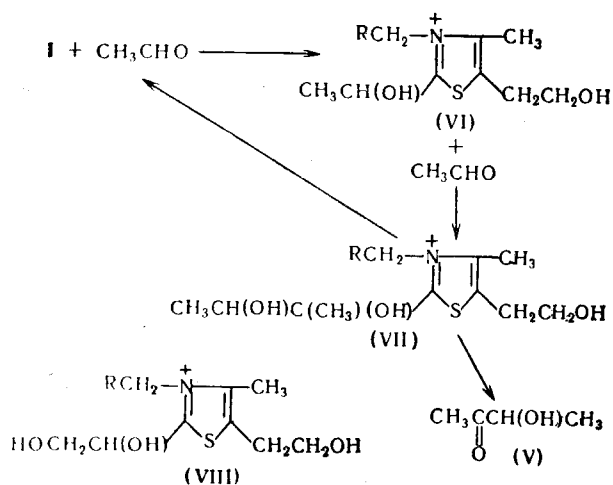
Сульфитное расщепление тиамина (I) приводит к образованию 2-метил-4-аминопиримидил-5-метилсульфонокислоты (III) и 4-метил-5-оксизетилтиазола (III). Недавно эта реакция была вновь изучена². Оказалось, что она специфична для производных тиамина, содержащих четвертичный атом азота. Так, в сильнощелочных растворах, в которых тиамин существует в тиольной форме, расщепления витамина не наблюдалось. Гидрированные производные тиамина (с третичным атомом азота тиазольного цикла) в концентрированных растворах также не расщепляются. В разбавленных растворах они окисляются до тиамина, затем происходит обычное расщепление витамина.

Реакция с тиогликолевой кислотой также приводит к деструкции тиамина, при этом образуется пиримидилметилсульфид (IV) и замещенный тиазол (III)³.



2. Реакции тиамина с карбонильными соединениями

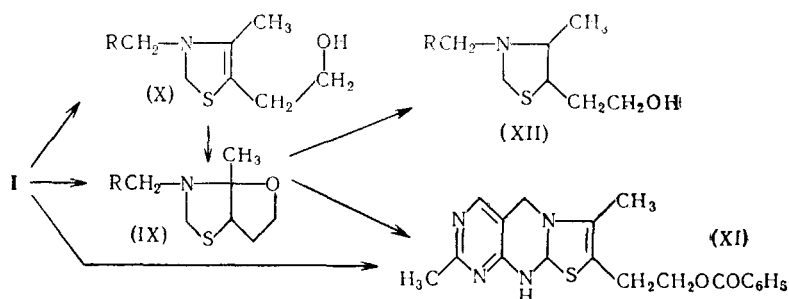
Взаимодействие тиамина с карбонильными соединениями проходит как типичная реакция электрофильного замещения. Исследование этой реакции позволило установить роль производных тиазолия как природных катализаторов альдольной конденсации. Манцухара⁴ впервые наблюдал, что при взаимодействии пировиноградной кислоты и тиамина в слабощелочной среде (pH 8,5) образуется ацетонин (V). Конденсация тиамина с ацетальдегидом в этих условиях приводит к образованию «α-оксиэтилтиамина» (VI), у которого оксиэтильная группа присоединяется во втором положении тиазольного кольца. Кроме того, образуется и другое соединение, которое, как оказалось, имеет строение «ацетонинтиамина» (VII)⁵. Таким образом, путь образования ацетонина из ацетальдегида в неферментативных процессах описывается следующими реакциями:



Реакция имеет общий характер⁵ — формальдегид в этих условиях дает (диоксиэтил)-производное тиамина (VIII). Аналогичная реакция с гликолевым альдегидом или с оксипировиноградной кислотой приводит к образованию смесей сахаров.

3. Гидрирование тиамина

Исследование свойств дигидротиамина, образующегося при гидрировании тиамина¹⁰, показало, что это соединение на самом деле имеет строение пергидрофуротиазолина⁶ (IX), что было подтверждено сравнением ИК-спектров дигидротиамина с веществами, обладавшими аналогичным строением. Лишь очень осторожное восстановление тиамина при помощи $\text{NaB}(\text{OCH}_3)_3\text{H}$ дало изомерный дигидротиамин (X), про-

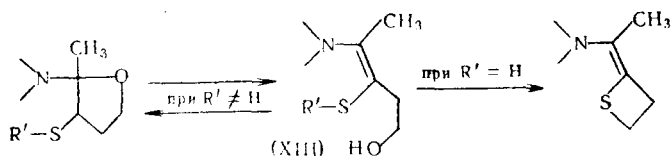


стое нагревание которого в воде вызывало замыкание гидрированного фуранового цикла⁷. Кроме этих веществ, при гидрировании получают еще и псевдодигидротиамин, который, как оказалось, является производным пиридино-[4,5-*d*]-тиазоло-[3,4-*a*]-пириимидина⁸. Бензоилирование дигидротиамина в пиридине приводит к образованию бензоата псевдоформы (XI)¹¹. Восстановление тиамина и дигидротиамина NaBH_4 дало тетрагидротиамин (XII)⁹.

III. РЕАКЦИИ, ПРИВОДЯЩИЕ К РАСЩЕПЛЕНИЮ ТИАЗОЛИЕВОГО ЯДРА

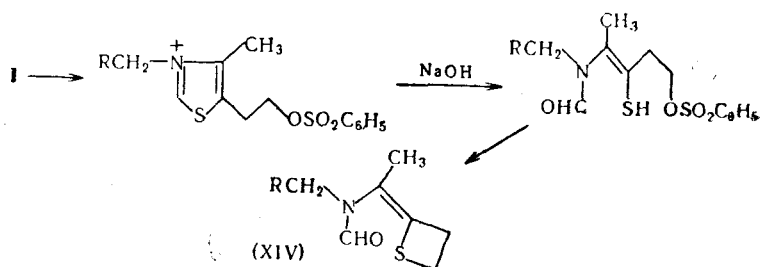
1. Инактивация тиамина, образование ангидрида тиамина

Тиамин гидролизуется в щелочных средах в тиольные формы витамина, производные ненасыщенного тиола. Свойства этих производных определяются специфической группировкой атомов (XIII), присутствующей во всех этих соединениях:



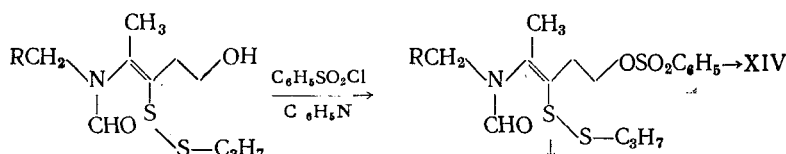
Она подвержена различным перестройкам, которые проходят в мягких условиях. При участии второй валентности серы в образовании тиазолинового цикла — наблюдается легкое замыкание пергидрофурутиазолинового цикла (как это происходит с дигидротиамином); если же у двойной связи находится тиольная группа, то происходит дегидратация и образование тиациклобутана. Замыкание четырехчленного цикла облегчено для арилсульфоновых эфиров тиамина, у которых, как известно, расщепление группировки атомов

—C—O—S—O—C— происходит легко между атомами углерода и кислорода. Поэтому, в противоположность монофосфорнокислому эфиру тиамина, его замещенные сульфаты чрезвычайно неустойчивы, и в щелочной среде претерпевают глубокие и необратимые изменения. Найдено, что инактивация тиамина протекает в растворе щелочи уже после добавления 1—3 капель бензолсульфохлорида¹². Затем выяснилось, что при такой обработке витамина образуется вещество, имеющее эмпирическую формулу $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ON}_4\text{S}$. Это соединение не превращалось вновь в тиамин при действии цистеина и, таким образом, не содержало дисульфидной связи. Как оказалось, оно имеет строение ангидрида тиольной формы витамина (XIV)¹³ и названо ангидридом тиамина:



Ангидрид тиамина, так же как и соответствующий сульфон, образующийся при его окислении перекисью водорода, практически не имеет биологической активности ¹⁴.

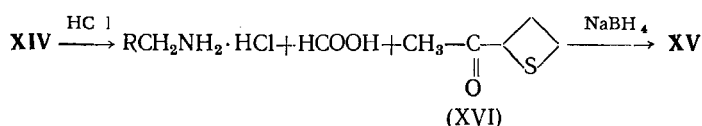
При осторожном действии алкил- или арилсульфохлоридов на тиаминхлорид, или на тиаминалкилдисульфиды на холоду в пиридине образуются соответствующие сульфонаты тиаминдисульфидов ¹⁵:



которые в спиртово-щелочной среде превращаются в ангидрид тиамина (XIV).

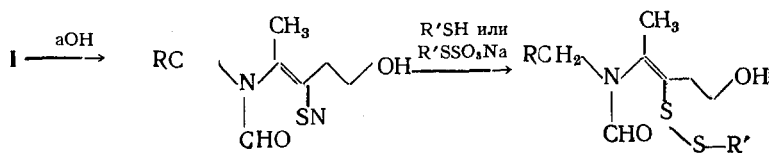
Для выяснения механизма этой реакции изучали поведение в щелочной среде бензолсульфонатов тиамина и тиаминдисульфида. Оказалось, что первый эфир легко, уже при pH 8, превращается в ангидрид тиамина, в то время как для разложения второго требуется более концентрированная щелочь ¹⁶. Обработка (β-дезоксид-β-хлорэтил)-тиамина водной щелочью приводит к тому же результату ¹⁷.

Тиациклобутановое кольцо с замещенной эндоэтиленовой группой довольно устойчиво: при гидролизе ангидрида тиамина соляной кислотой получен 2-ацетилтиациклобутан (XVI), восстановленный борогидридом натрия в 2-(1'-оксиэтил)-тиациклобутан (XV) ¹⁸:

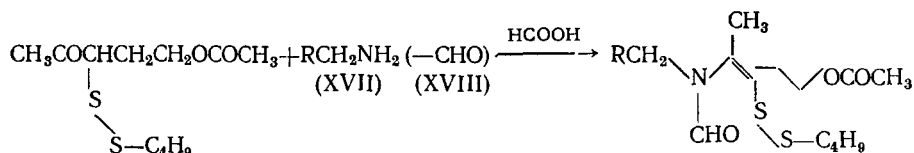


2. Несимметричные дисульфиды тиамина

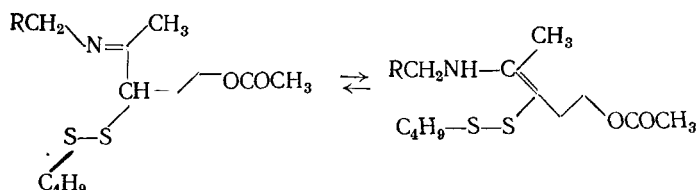
Одной из важнейших реакций тиольной формы витамина В₁ является образование дисульфидных производных тиамина. При действии на тиамин алкил-, арил- или аралкилмеркаптанами или органическими тиосульфатами образуются соответствующие тиаминалкил-, тиаминарил- или тиаминаралкилдисульфиды, обладающие витаминной активностью ¹⁹:



Другой путь синтеза несимметричных тиаминдисульфидов заключался в конденсации γ -ацетил- γ -дитиобутилпропилацетата и 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (XVII), или его формилпроизводного (XVIII) и обработке продукта конденсации муравьиной кислотой ²⁰:



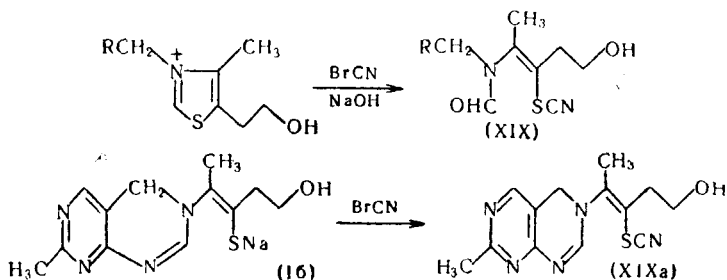
Следует отметить, что указанный синтез предполагает в качестве вероятной промежуточной стадии таутомерное превращение:



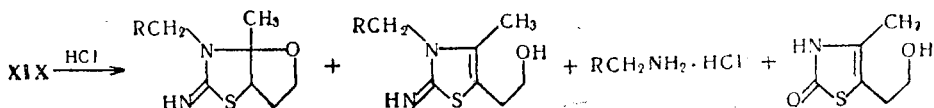
Алкилирование тиаминмононитрата трифенилхлорметаном и производными хлористого бензила привело к образованию тиаминбензилсульфидов ²¹.

3. Циантиамин и его превращения

Действие бромциана в щелочных растворах на тиамин приводит к глубоким изменениям витамина, происходит расщепление тиазольного ядра и образуется так называемый «циантиамин» (XIX) ^{22, 26} — новая жирорастворимая форма тиамина ²³. Показано также ²⁴, что циклический тиол витамина В₁ (Iб) превращается при действии бромциана в соответствующий тиоцианат, названный «неоциантиамином» (XIXa). Реакция эта была подробно исследована, изучалось влияние различных заместителей и было показано, что она имеет довольно общий характер для солей тиазолия, имеющих различные замещающие группы в 3,4- и 5-положениях:

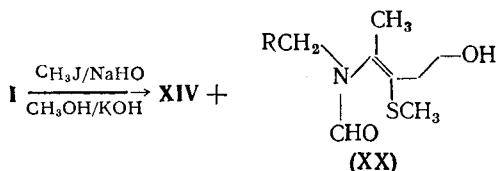


Гидролиз ненасыщенного тиоцианата, образовавшегося из 3-бензил-4-метил-5-(β -оксиэтил)-тиазолия, привел к 2-амино-3-бензил-3а-метил-5,6,7,8-тетрагидрофуру-[2,3-d]-тиазолу, выделенному в виде пикрата. Аналогичная обработка «циантиамина» (XIX) привела к образованию смеси различных соединений ²⁵:

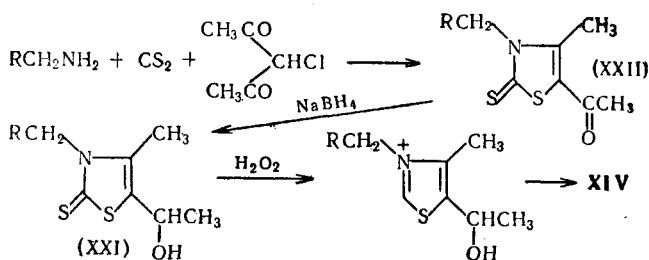


Нагревание «цианотиамина» (XIX) с органическими кислотами также приводит к расщеплению и образованию смеси различных продуктов ацилирования²⁵. Кипячение его в бутиловом спирте дает ангидрид тиамина (XIV)²².

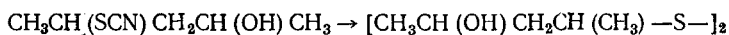
В дальнейшем реакция инактивации «цианотиамина» (XIX) и превращения его в ангидрид тиамина (XIV) была подробно исследована²⁷. Оказалось, что при действии на «цианотиамина» (XIX) метанольного раствора щелочи также образуется ангидрид; одновременно выделено S-метильное производное тиола В₁ (XX). Соединение (XX) получено также действием иодистого метила на витамин в щелочном растворе, а также при действии метанольного раствора едкого кали:



Интересно, что для образования ангидрида тиамина безразлично, в каком положении находится гидроксил оксиэтильной группы по отношению к тиазольевому ядру (α - или β -). Из 5-(α -оксиэтил)-тиамина (XXI) также образуется ангидрид тиамина (XIV). Это соединение было получено из соответствующего 5-ацетилтиазолинтiona-2 (XXII)²⁷.



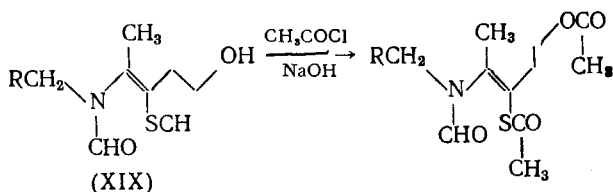
Наличие серы у двойной связи — обязательное условие образования тиациклобутанового кольца; так из 2-тиоцианопентанола-3²⁷, так же как и из других алкилтиоцианатов в метанольном растворе щелочи образовались лишь дисульфиды²⁸:



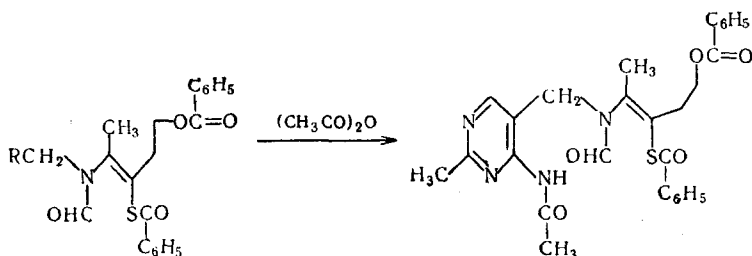
IV. АЦИЛИРОВАНИЕ ТИАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Ацилированием О-монофосфата тиамина были получены многочисленные тиацильные производные (S-*p*-нитробензоил-, S-*p*-хлорбензоил-, S-*p*-толуил-, S-фенилацетил-, S-циннамоил-, S-фурил-, S-фуран-акрилоил-, S-теноил-, S-бутироилпроизводные)²⁹. При действии на S-ароилтиамины дигидропирана получили простые эфиры витамина — О-тетрагидропиранил-S-ароилтиамины²¹.

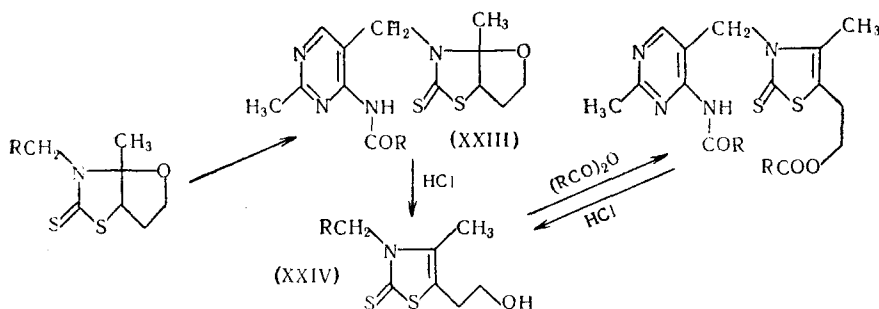
Ацилирование «цианотиамина» (XIX) хлорангидридами кислот приводит к О,S-диацилтиаминам³⁰:



Устойчивость S-ацилпроизводных тиаминa зависит от кислотности среды и от характера ацильного остатка. В кислой среде при нагревании S-бензоилтиамина наблюдалась миграция бензоильной группы и образование O-бензоилтиамина. Реакция эта идет лучше при pH 5. Алифатические S-ацилтиамины менее устойчивы, чем ароматические и гетероциклические производные, что может быть объяснено индукционными и пространственными эффектами ацилтиаминов³¹. Ацилирование O,S-дibenзоилтиамина и O,S-диацетилтиамина уксусным ангидридом приводит к образованию N-ацетил-O,S-дibenзоилтиамина и N,O,S-триацетилтиамина³². Аналогичным образом получают и другие N-ацилпроизводные³³. В то же время обработка S-бензоилтиамина янтарным ангидридом привела к O-сукцинил-S-бензоилтиамину³⁴.

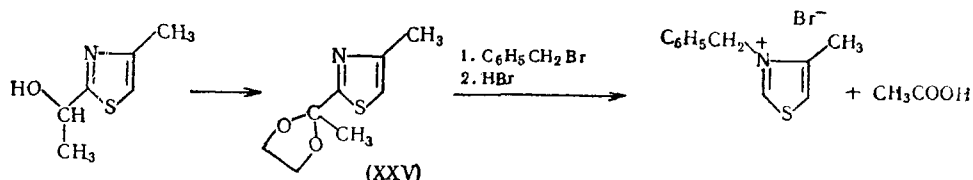


Изучены реакции ацилирования одного из важнейших промежуточных продуктов синтеза тиаминa, замещенного тиона, 3-(пиримидилметил)-тиазолина, так называемого «тиотиаминa» (XXIV)³⁵. Оказалось, однако, что эти реакции не могут быть использованы для синтеза биологически важных N-ацилтиаминов, так как N-ацилтиазолинтионы легко гидролизуются разбавленной кислотой. С такой же легкостью гидролизуются кислотами и ацилпроизводные пергидрофуортиазолинтиона (XXIII); одновременно расщепляется тетрагидрофурановый цикл и образуется «тиотиамин» (XXIV).



В то же время образующиеся из «тиотиаминa» (XXIV) при его фосфорилировании диэтил- и дифенилфосфаты оказались устойчивыми к действию перекиси водорода и были легко превращены в соответствующие замещенные фосфаты тиаминa³⁶. Удалось также профосфорилировать S-бензоилтиамин-, в результате синтезировали O-(морфолидофосфаты)-S-бензоилтиамина³⁷.

2-C-Ацильные производные тиаминa до сих пор не получены вследствие их неустойчивости³⁸. При окислении 2-(α-оксиэтил)-4-метилтиазола получен в виде диоксоланового производного 2-ацетил-4-метилтиазол (XXV), превращенный бензилированием и гидролизом в бромистый 3-бензил-4-метилтиазолий.



В другом случае получен чрезвычайно легко расщепляющийся 2-ацетил-3,4-диметилтиазолий. Иодистый 2-бензоил-3,4-диметилтиазолий, синтезированный из 2-бензоил-4-метилтиазола и иодистого метила в диметилформамиде, при растворении в метиловом спирте распадался на метилбензоат и иодистый 3,4-диметилтиазолий.

Найдено, что свободная энергия гидролиза иодистого 2-бензоил-3,4-диметилтиазолия очень велика³⁹. Величина свободной энергии гидролиза, рассчитанная для фосфата 2-ацетилтиамина, ставит это соединение в ряд других классических фосфатов (АТФ и т. д.), а присутствие лабильной связи во втором положении 2-ацетилтиазолия позволяет говорить о новом типе «макроэргической связи».

V. ТИАМИН-ПРОТЕИНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ

Тиамин дает прочные комплексы с некоторыми белками. Так, при осаждении тиамин на казеине получен устойчивый комплекс⁴⁰. Денатурированный белок молока и овальбумин образуют с тиаминдисульфидом тиамин и недиализуемые белково-тиаминовые комплексы⁴¹, имеющие 90% активности витамина.

Как показали дальнейшие исследования⁴², комплекс этот имеет дисульфидное строение, так как при действии на него цистеина или тиосульфата натрия освобождается витамин.

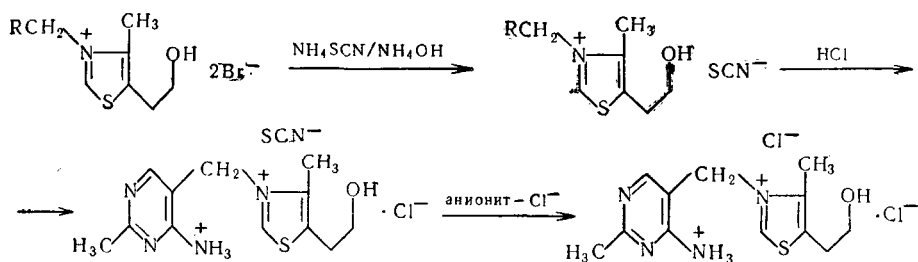
Белок соевого молока после замораживания и оттаивания прочно удерживал тиамин⁴³. Исследовалась адсорбция различных производных тиамин: хлоргидрата, нитрата, роданида, дигексадецилсульфата и дибензоата. Оказалось, что все эти производные прочно связывались белком и были выделены после обработки протеиназой и такадиастазой и кислотного гидролиза адсорбата. После денатурации белка способность к адсорбции изменялась при действии раствора гидроксил-амин; *p*-хлормеркурбензоат не изменял этого свойства. Отсюда сделан вывод, что активный центр белка, ответственный за связывание тиамин, содержит карбонильную группу. Следует отметить, что тиаминдифосфат также довольно прочно связан с апоферментом. Хотя константа сродства тиаминдифосфата к карбоксилазе составляет $3,3 \cdot 10^{-6}$, диссоциация фермента протекает с очень низкой скоростью⁴. В литературе отсутствуют другие количественные данные, характеризующие связь тиамин с белком.

VI. ПРОИЗВОДНЫЕ ТИАМИНА

1. Соли и эфиры тиамин

Синтезам различных солей и производных тиамин за последние годы посвящено много работ⁴⁴⁻⁶⁰. Описаны десятки производных витамина В₁. Среди них различные галогениды витамина. Частичной нейтрализацией хлорида хлоргидрата тиамин, так называемого хлорида тиамин, до pH 6 и высаливанием соответствующими солями были получены моносоли, в том числе мононитрат тиамин, который нашел большое применение в клинической практике⁴⁴. Этот препарат, наряду с другими солями, может быть получен и ионообменным методом⁶¹.

Сначала бромгидрат бромида тиаминa обработкой роданистым аммонием в NH_4OH превращают в роданид тиаминa, который растворяют в соляной кислоте и пропускают через анионит



Таким образом получают хлориды и другие соли тиаминa.

Описан способ превращения бромгидрата бромида витамина B_1 в хлоргидрат хлорида, основанный на большей летучести бромистых алкилов, образующихся при обработке первого безводным хлористым водородом в низших алифатических спиртах⁶².

Действием концентрированной соляной кислоты на галогениды тиаминa и осаждением ацетоном получены хлоргидраты бромида и иодида тиаминa⁵². Синтезированы и изучены сульфат⁴⁷, а также различные алкил- и арилсульфонаты тиаминa⁴⁸⁻⁵¹. Сульфат тиаминa получен при действии на его хлоргидрат хлорсульфоновой кислоты⁴⁷.

Большинство замещенных сульфонатов малорастворимы в воде. Синтезированы следующие соли тиаминa: циклогексилметилсульфонат, мезитилсульфонат, дифенилметан-4,4'-дисульфонат, 2,2-дифенилпропан-4,4'-дисульфонат, 2,2-диметил-1,3-дифенилпропан-4,4'-дисульфонат, 2,4,6,2',4',6'-гексаметилдифенил-3,3'-дисульфонат, нафталин-1,5-дисульфонат и нафталин-2,6-дисульфонат⁵⁴.

Соли тиаминa и дибензоилтиаминa с циклогексилсульфаминовой кислотой довольно устойчивы⁵¹.

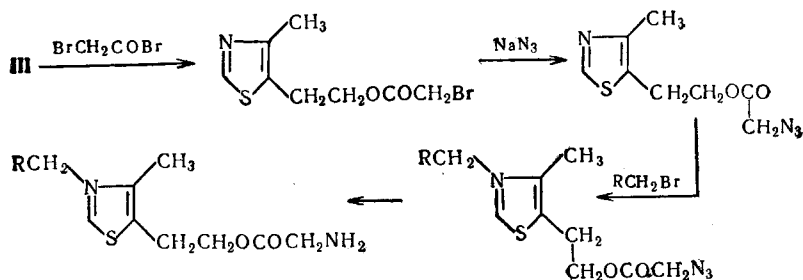
Тиаминдицетилсульфонат, мало растворимый в воде, более устойчив, чем хлорид тиаминa при нагревании и может быть с успехом использован для витаминизации хлеба и других пищевых продуктов.

Обменным разложением комплекса B_1 — эозин с кислотами также получают соответствующие соли: сульфат, фумарат, нитрат, хлорид, бромид, иодид, оксалат, сахаринат, дицетилсульфонат⁵³.

Получены различные соли тиаминa с органическими кислотами: моносахаринат⁵⁷, дисахаринат⁶³, таннат⁵⁸, салицилат и различные его производные⁵⁹, соль с глицерризиновой кислотой, выделенной из *Glucyrrhiza uralensis*⁵⁶, а также тиаминовые производные гибберелина⁶⁴, лаурилфосфат⁴⁵ и другие соли, такие как тетрафенилборат⁴⁶. Получена окрашенная соль тиаминa и кислого сульфопиразолинового азокрасителя⁶⁰.

Синтезированы различные эфиры бромгидрата и хлоргидрата тиаминa: каприловой, лауриновой, миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, янтарной, фталевой кислот⁶⁵. Эфиры, особенно пальмитат, хорошо усваиваются животными¹⁷.

Большой интерес представляют также попытки получения аминокислотных и углеводных производных тиаминa. Из 4-метил-5-(β -ацето-ацетокси)-тиазола и 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидина получили ацетоксазидотиамин, восстановление которого дало глицинат тиаминa, аналогично синтезировали его бензилоксикарбонильные производные⁶⁶.



Из хлоргидрата О-бензоилтиамина и α-ацетобромглюкозы был синтезирован S-β-D-глюкозид тиамина⁶⁷.

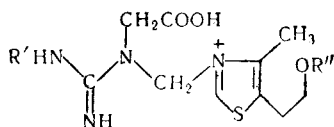
2. Производные тиола тиамина

За последние годы появились сообщения о выпуске новых видов препаратов витамина В₁, являющихся производными тиольной формы тиамина. Синтезированы десятки несимметричных дисульфидов⁶⁸⁻⁷⁶. Из них в качестве новых витаминных препаратов японскими исследователями предложены: тиаминпропилдисульфид — структурный аналог аллилтиамина, тиаминтетрагидрофурурилдисульфид, а также тиамин-(-8-метил-6-ацетилдигидротиоктоанат)-дисульфид⁶⁸. Синтезы этих препаратов приводят по описанным выше схемам.

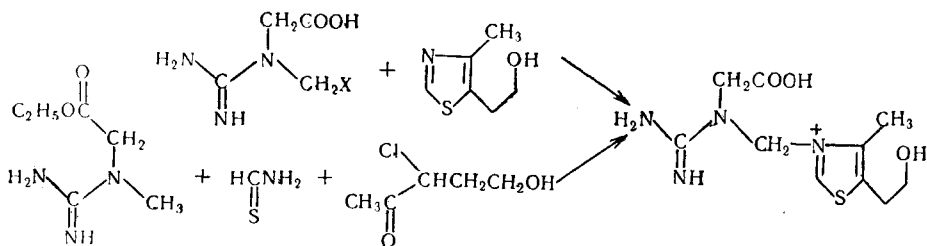
Из монофосфорного эфира «цианотиамина» (XIX) получен новый эффективный препарат — О-монофосфат, S-бензоилтиамина³⁰. Обработка «цианотиамина» (XIX) и его О-бензоилпроизводного меркаптанами приводит к соответствующим тиаминдисульфидам⁷⁵. Установлено, что тиаминаллил-, тиаминпропилдисульфиды, S,O-диацетилтиамин и S,O-дibenzoилтиамин более легко поглощаются в кишечнике, чем тиаминхлорид, в то же время наиболее высокий уровень витамина В₁ в крови способен поддерживать тиаминпропилдисульфид⁷⁷.

3. Новые природные соединения, близкие тиамину

Недавно описаны два новых природных соединения, выделенные из японского чеснока⁷⁸. Эти вещества, напоминающие по своему действию тиамин, были названы скордининами А и Б. В состав обоих входит группировка, названная тиамидиновой.



Скординины содержат тиазоловые группировки, аналогичные витамину В₁, и вместо пиримидинового остатка — группировку креатина. Синтез структурного ядра скордининов был осуществлен двумя способами:



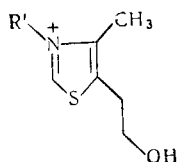
Оба соединения отличаются друг от друга лишь замещающими группами R' и R'', строение которых точно не установлено. Известно лишь,

что в состав скординина А, образовавшегося в чесноке после нескольких месяцев хранения, входит фосфатид. Открыта новая группа несимметричных пирофосфатов, среди них — тиаминдифосфат-3-ацетамидо-3,6-дидезоксигексоза, которая, аналогично нуклеозиддифосфат-сахарам, является донором гликозидных остатков в биосинтезе экзополисахарида *Xanthomonas Campestris*⁷⁹.

4. Аналоги тиамина

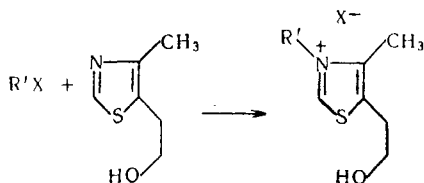
Исследование зависимости между строением и биологической активностью производных тиамина уже давно привело к синтезу пиритиамина и других веществ, которые обладали свойствами антивитаминов. Систематический синтез различных аналогов тиамина позволил наметить некоторые связи между строением и биологической активностью. Следует отметить, что во всех случаях построение аналогов велось по принципу так называемого «изостерического ингибирования», когда

синтезированный аналог общей формулы



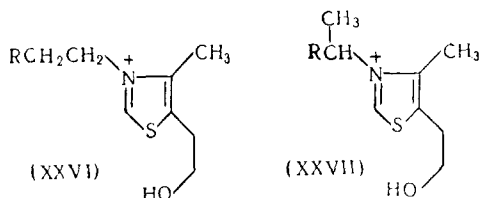
близок

по объему и конфигурации к природному витамину. Таким образом, изменения вносили в пиримидиновую часть молекулы. Как правило, все эти аналоги синтезировали по схеме:



R' — остаток гетероцикла.

2-Трифторметилтиамин оказался ингибитором витамина, обладавшим интересными биологическими свойствами⁸⁰. Например, этот препарат подавлял развитие лейкемии и рост трансплантированной карциномы у мышей при диете с недостаточностью витамина В₁. Синтезированы гомологи тиамина (XXVI) и (XXVII):



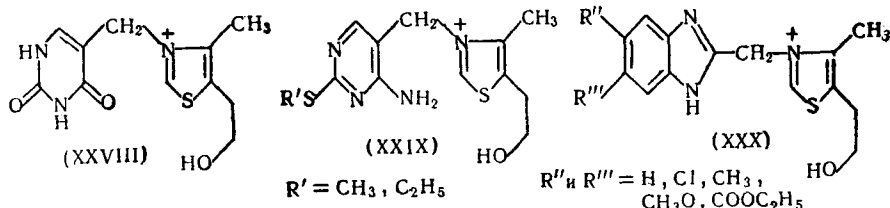
При исследовании каталитических свойств этих соединений на модельной системе, воспроизводящей синтез ацетоина (V), оказалось, что первое из них (XXVI) имеет 67% активности, а второе (XXVII) — 5% активности тиамина⁸¹. Ни один из гомологов не обладал витаминной активностью в микробиологических пробах с *Kloeckera brevis*.

6-Метилтиамин имел около одной трети активности⁸², по другим данным его активность составила 18% от активности тиамина⁸³.

В реакциях декарбоксилирования были изучены производные витамина В₁, у которых метильная группа во втором положении была замещена на этильную, метоксиметильную, β-этоксиптильную, феноксиметильную и α-бромэтильную группу. Оказалось, что большинство этих

соединений неактивны. Исключение составили лишь β -этоксипропилтиамина, активность которого в декарбоксилазной реакции была понижена, и метоксиметилтиамина, который вел себя как антивитамин⁸⁴.

Синтезированы гетероциклические аналоги тиамин — производные 2',4'-диоксо-5'-пиримидилметилтиазолия⁸⁵ (XXVIII) тиопиримидиновые аналоги [например «метиоприм» (XXIX)⁸⁶], а также бензимидазольные⁸⁷ аналоги (XXX).

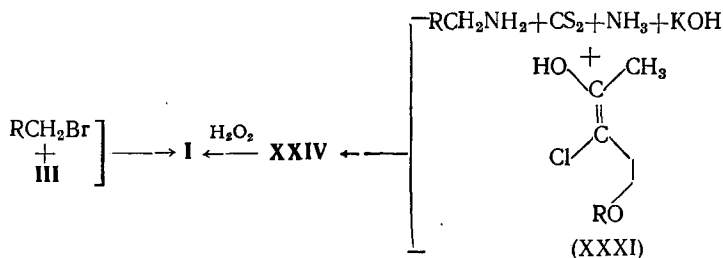


Необходимо отметить, что построение аналогов по принципу изостерического ингибирования, оказавшееся во многих случаях при поисках лекарственных веществ столь эффективным, еще не дало в области тиамин каких-либо практических результатов, что свидетельствует прежде всего о высокой специфичности химического строения витамина.

Все же открытие и установление строения природного антибиотика бацитетрина (из *Vas. megaterium*), активного против дрожжей и бактерий, который, как оказалось, идентичен с 4-амино-5-оксиметил-2-метоксиметилпиримидином⁸⁸, дает основание надеяться, что и в этой области можно ожидать практических успехов.

VII. РАЗВИТИЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ СПОСОБОВ СИНТЕЗА ВИТАМИНА В₁

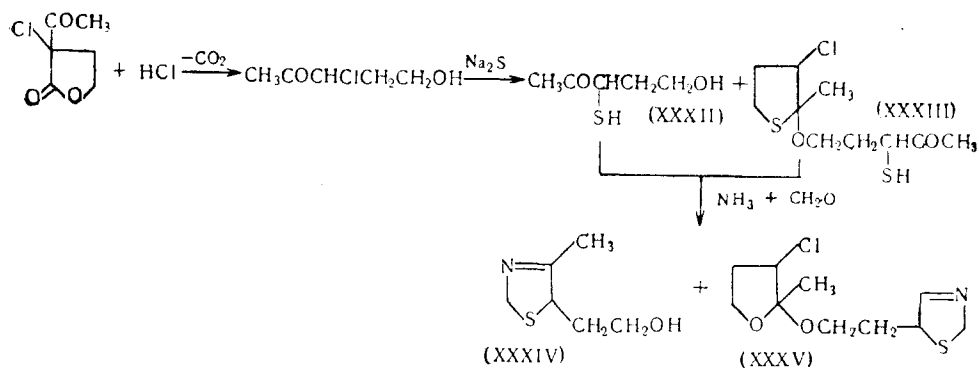
Различные варианты синтеза тиамин подробно описаны ранее⁸⁹. Известно, что существует два основных направления, по которым строится производство витамина В₁ в разных странах: 1) синтезы тиамин из 5-бромметилпиримидина и 4-метил-5-(β -оксиэтил) тиазола и 2) синтезы тиамин через 3-N-(2'-метил-4'-амино-5'-пиримидилметил)-4-метил-5-(β -оксиэтил)-2-тиотиазолон (XXIV) (так называемый «тиотиамин»). История появления второго промышленного метода синтеза витамина В₁ в Японии связана с борьбой японских и американских фармацевтических фирм за рынки сбыта. Следует отметить, что, хотя в СССР и организовано крупное производство витамина В₁, окончательный выбор того или иного варианта метода синтеза в нашей стране еще не сделан. Новые исследования в области синтеза витамина В₁ развивают эти два традиционных направления.



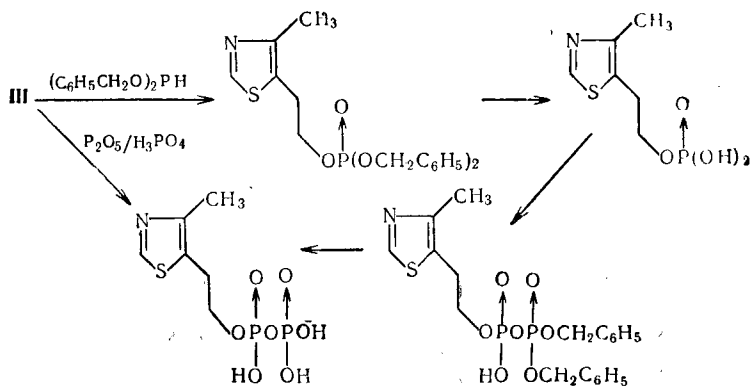
1. Синтез из 4-метил-5-(β -оксиэтил)тиазола

Описан новый вариант синтеза тиазольного компонента тиамин⁹⁰, по которому исходят из α -хлор- α -ацетил- γ -бутиролактона. Обработкой этого соединения концентрированной соляной кислотой получают γ -хлор- γ -ацетопропиловый спирт, на который действуют спиртовым

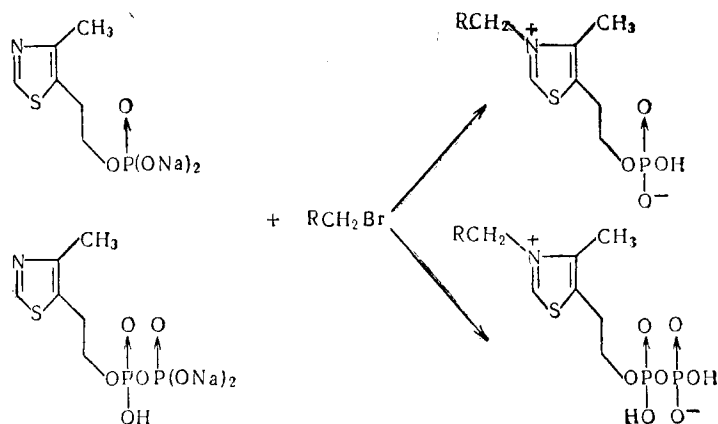
раствором сернистого натрия. В результате получают смесь γ -меркапто- γ -ацетопропилового спирта (XXXII) и 2-(3'-ацетил-3'-меркаптопропилокси-2-метил-3-хлортетрагидрофуран) (XXXIII). Обработка XXXII и XXXIII параформом и аммиаком, наряду с уротропином, дала смесь 4-метил-5-(β -оксиэтил)-3-тиазолина (XXXIV) и тетрагидрофурилового эфира тиазолина (XXXV):



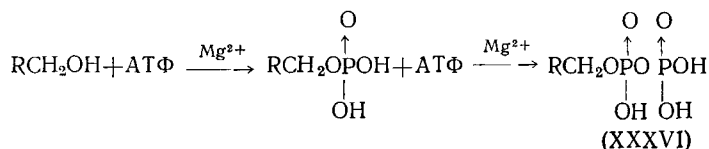
В дополнение к известным способам получения тиаминмоно- и дифосфатов (ТМФ и ТДФ), которые сводятся к обработке тиамина пирфосфорной кислотой с последующим хроматографическим разделением продуктов фосфорилирования на колонках⁹¹, недавно описан новый метод получения фосфатов тиамина⁹². Сначала различными способами фосфорилируют 4-метил-5-(β -оксиэтил)тиазол (III).



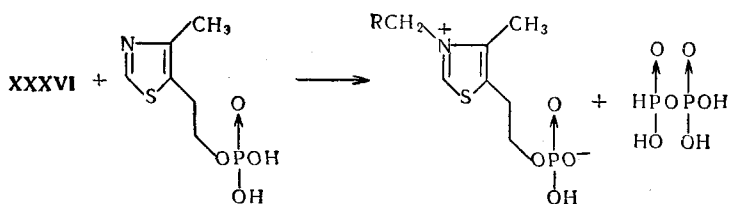
Затем полученные моно- или дифосфорные эфиры тиазола конденсируют с 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидином, при этом образуются с высокими выходами ТМФ и ТДФ.



Интересно, что этот метод синтеза фосфатов тиамина напоминает путь биосинтеза тиамина во многих микроорганизмах. Оказалось, что фермент, содержащийся в бесклеточных экстрактах дрожжей, катализирует конденсацию пиримидиновых и тиазоловых остатков тиамина⁹³. Фермент этот активировался АТФ. Принимается⁹⁴, что основным промежуточным соединением биосинтеза тиамина является дифосфат 2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидина (XXXVI). Основная схема биосинтеза тиамина с участием (XXXVI) выражается следующей последовательностью реакций: 2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидин двукратно фосфорилируется под действием АТФ



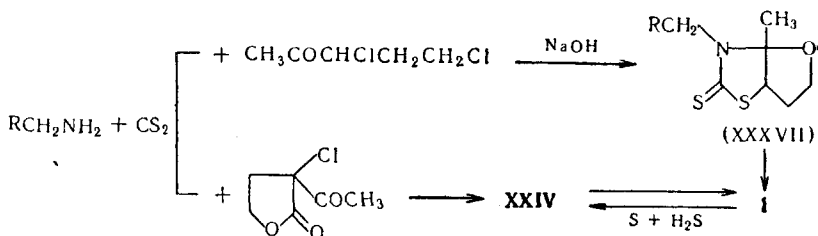
полученный дифосфат вступает в реакцию с монофосфатом тиазола, в свою очередь образующегося при фосфорилировании 4-метил-5-(β-окси-этил)-тиазола; при этой реакции образуется ТМФ. Гидролиз фосфоэфирной связи приводит к тиамину.



Описано несколько вариантов синтеза меченого S³⁵-тиамина, представляющих повторение различных способов, известных ранее^{95, 96}.

2. Синтез витамина В₁ через «тиотиамин»

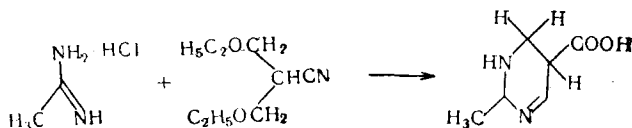
Описаны различные варианты получения тиона тиазолина — «тиотиамин» (XXIV)⁹⁷. Конденсация 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (XVII) и сероуглерода с α,γ-дихлор-γ-ацетопропаном (XXXI) приводит к образованию (2-метил-4-амино-5-пиримидил)-метил-4-метилтетрагидрофура-[2,3-d]-тиаколидинтиона-2 (XXXVIII), окислением которого получили тиамин^{98, 99}:



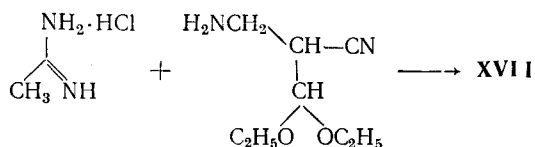
Если обрабатывать «тиотиамин» (XXIV) перекисью водорода в присутствии карбонатов щелочно-земельных металлов¹⁰⁰, образуются моносоли тиамина — монохлорид, моноидрид, мононитрат и монороданат.

Преобразование «тиотиамин» в тиамин, как оказалось, представляет обратимую реакцию. Если нагревать тиамин с серой или с сероводородом, происходит образование «тиотиамин»¹⁰¹.

Большое внимание при дальнейшем совершенствовании метода синтеза через «тиотиамин» было уделено изучению различных вариантов синтеза 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (XVII) из производных β-алкокси- или β-аминопропионитрилов. Показано, что α-этоксиметил-β-этоксипропионитрил с ацетамидином дает 2-метил-3,4-дигидропиримидинкарбоновую-5 кислоту¹⁰²:



С выходом ~60% пиримидин (XVII) был получен из α-диэтоксиметил-β-аминопропионитрила и ацетамидина¹⁰³:



Аналогичный результат получен при нагревании в автоклаве при 140—150° смеси ацетамидина с α-этоксиметил-β-ацетоксипропионитрилом и последующем гидролизе 10%-ным раствором щелочи¹⁰⁴.

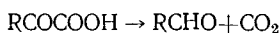
VIII. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНА В₁

Изучение реакций тиамин с альдегидами и кетокислотами выявило новые очень важные свойства витамина. Оказалось, что тиамин и его фосфорные эфиры могут служить эффективными катализаторами реакций типа альдольных конденсаций. Эти наблюдения позволили, наконец, понять механизм биологического действия витамина В₁.

Как известно, тиамин в организме подвергается фосфорилированию и в виде дифосфорного эфира участвует во многих биокаталитических процессах. Пирофосфат тиамин, или, правильнее, дифосфат тиамин (ТДФ) входит в состав многих ферментов, выполняя роль протетической группы или кофермента, довольно прочно связанного с апоферментом — белком¹⁰⁵.

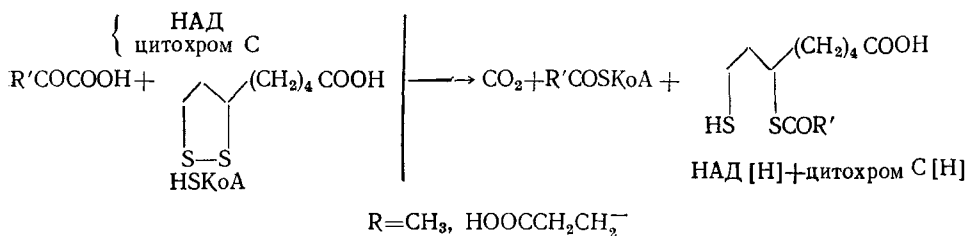
Сейчас известно более десяти различных ферментов, с доказанным участием ТДФ как кофермента¹⁰⁶, среди них ферменты или ферментные системы, осуществляющие декарбоксилирование пировиноградной кислоты или других кетокислот, а также ферменты, катализирующие реакции обмена углеводов типа альдольного синтеза или альдольного разуплотнения. К ним относятся:

1. α-Карбоксилаза, осуществляющая декарбоксилирование α-кетокислот до соответствующих альдегидов и углекислоты:



2. Различные дегидрогеназы (оксидазы) пировиноградной кислоты и α-кетоглутаровой кислоты, действие которых сводится к декарбоксилированию и окислению этих субстратов. Роль акцепторов водорода и ацильных групп (роль косубстратов и коферментов окисления) в этих

реакциях выполняет липоевая кислота, никотинамидадениндинуклеотид (НАД), цитохром С и коэнзим А.



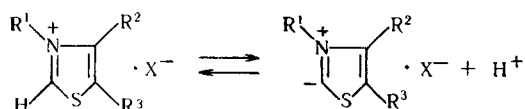
3. Группа ферментов, осуществляющих реакции, обратные альдольной конденсации, например, фосфокетолаза.

4. Ферменты, катализирующие альдольный синтез. К ним относится транскетолаза из дрожжей, осуществляющая реакцию образования 7-фосфата седугептулозы и 3-фосфата глицеринового альдегида из 5-фосфата ксилулозы и 5-фосфата рибозы. К этой же группе ферментов относятся ацетинообразующий комплекс из *Aerobacter aerogenus* и карболигаза глиоксиловой кислоты.

Несмотря на то, что факт участия ТДФ в процессах декарбоксилирования и других превращениях α -кетокислот известен уже более четверти века^{107, 108}, его механизм оставался неясным до недавнего времени. Высказано много различных гипотез, в той или иной мере подтвержденных на химических моделях, однако ни одна из них не получила экспериментального подтверждения при изучении биологических систем.

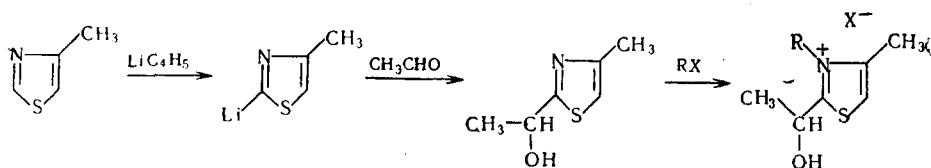
Бреслоу¹⁰⁹ предложил общий модельный механизм действия тиамина, связав два процесса: декарбоксилирование кетокислоты и ацилоиновою конденсацию. Как известно, роль цианида, который является катализатором ацилоиновою конденсации, сводится к образованию активного промежуточного карбаниона с альдегидом, который, в свою очередь, реагирует со второй молекулой альдегида, давая ацилоин.

Оказалось¹¹⁰, что производные тиазолия также способны давать промежуточные активные карбанионы, к которым легко присоединяется пировиноградная кислота. Изучение изотопного обмена дейтерия с тиазолием показало, что существует таутомерное равновесие¹¹¹:

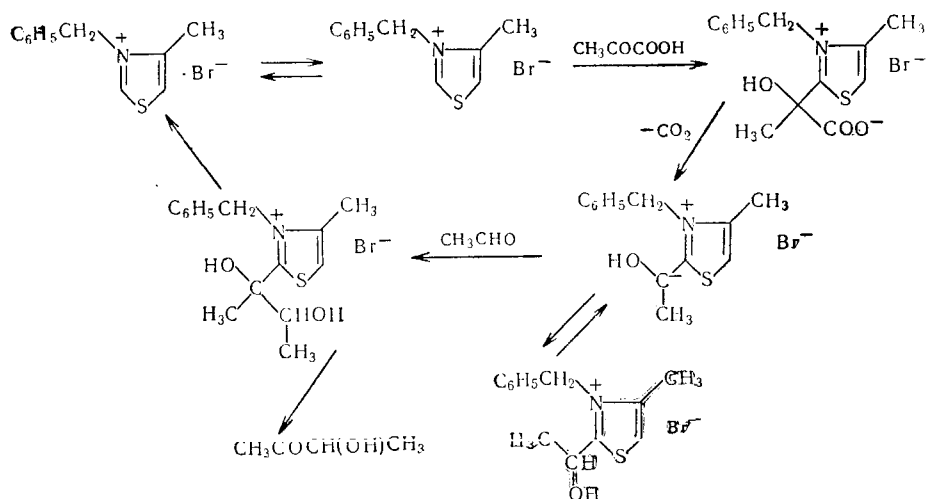


так как бромиды 3,4-диметилтиазолия и 3-бензил-4-метилтиазолия легко обменивают водород во втором положении тиазолия на дейтерий в тяжелой воде. Карбанион легко присоединяет пировиноградную кислоту; механизм этой реакции аналогичен первой стадии ацилоиновою конденсации. Декарбоксилирование приводит к промежуточному 2-(α -оксиэтил)-тиазолу.

Такие производные были синтезированы¹¹² независимым путем через литийорганические соединения:

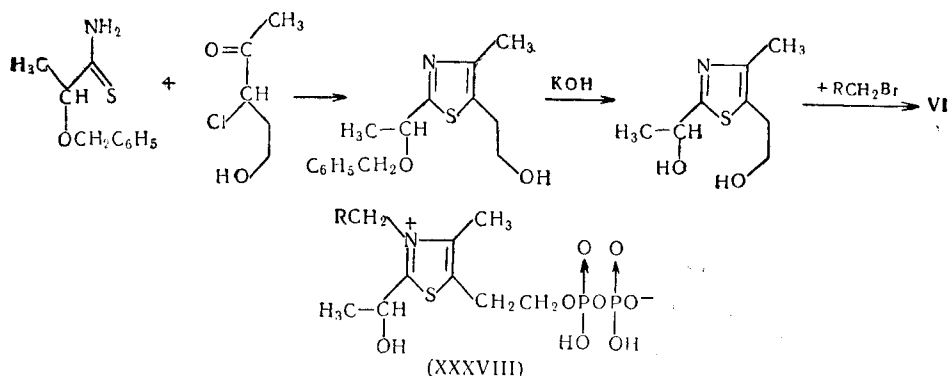


Таким образом получен бромистый 2-(α -оксиэтил)-3-бензил-4-метил-тиазолий, который оказался энергичным катализатором синтеза ацетона из пировиноградной кислоты. Механизм этой реакции описан ниже следующей схемой:



Остаток бензила, как было выяснено, играет важную роль, так как бромистый 2-(α -оксиэтил)-3,4-диметилтиазолий обладает гораздо более слабыми каталитическими свойствами. Это же положение подтверждается наблюдением за скоростью обмена дейтерия. При 25° и pH 5,37 у 3-бензильного производного обмен идет в три раза быстрее, чем у 3-метилтиазолия. Это наблюдение позволило объяснить роль пиримидинового остатка тиамина, необходимого, очевидно, для создания электронного взаимодействия, облегчающего образование карбаниона. Большая эффективность тиамина, таким образом, объясняется большим электрофильным эффектом пиримидинового остатка, чем у фенильного ядра.

«2-Оксиэтилтиамин», т. е. хлоргидрат хлористого [DL-3-(2-метил-4-амино-5-пиримидил)-метил]-2-(1'-оксиэтил)-4-метил-5-(2'-оксиэтил)-тиазолия¹¹², обладает аналогичными свойствами и заменяет тиамин при выращивании микроорганизмов на питательных средах. Синтез его проведен таким образом, что положение оксиэтильной группы у второго атома тиазола не может быть подвергнуто сомнению.

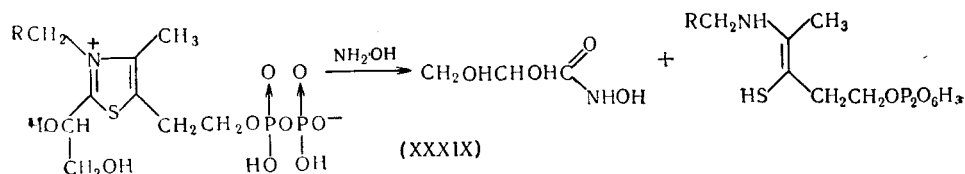


Затем из смеси ТДФ и ацетальдегида был выделен «2-(α -оксиэтил)-тиаминдифосфат» (XXXVIII) ⁵. Из меченого по обоим углеродным атомам ацетальдегида был получен меченый (XXXVIII), который и использовался далее в биохимических исследованиях. Оказалось, что это соединение выполняет роль «активного ацетальдегида», существование которого предполагалось заранее.

Было показано ⁵, что меченый 2-(α -оксиэтил) — ТДФ является промежуточным продуктом при образовании ацетальдегида карбоксилазой пшеничных зародышей, при образовании ацетонна ферментными препаратами, полученными из *Aerobacter aerogenus*, при образовании ацетата, искусственной системой, имитирующей оксидазу пировиноградной кислоты.

Применение меченого ди(оксиэтил) — ТДФ (XXXIX), полученного из меченого формальдегида и ТДФ, а также из оксипировиноградной кислоты и ТДФ в присутствии пируватоксидазы из сердечной мышцы ¹¹³, в реакциях с 5-фосфатом рибозы, катализируемой транскетолазой из пекарских дрожжей, позволило по включению метки в образующийся 7-фосфат седогептулозы доказать роль XXXIX как активного промежуточного продукта и в этой реакции ¹¹⁵.

Строение 2-(диоксиэтил) — ТДФ — «активного гликолевого альдегида» (XXXIX) было доказано гидроксамовой реакцией ¹¹⁴.



Расшифровка роли оксиэтилпроизводных тиаминна позволяет рассмотреть ферментативные превращения с участием ТДФ при помощи единого механизма.

* * *

Познание механизма действия тиаминна еще раз подтверждает тот замечательный факт, что все биохимические процессы имеют аналогии в неферментативных реакциях органических веществ, законы которых сохраняют силу и для ферментативных реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. Kraut, H. J. Reed, *Acta cryst.*, **15**, 747 (1962).
2. Ch. Kawasaki, T. Suhara, T. Horio, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 65 (1958); *C. A.*, **52**, 11859 (1958).
3. G. E. Bonvicino, D. J. Hennessy, *J. Org. chem.*, **24**, 451 (1959).
4. S. Mizuhara, P. Handler, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 571 (1954).
5. Л. О. Крамплиц, И. Судзуки, Г. Грейл, Труды IV Симпозиума V ЖБК, М., Изд. АН СССР, 1961.
6. T. Matsukawa, H. Hirano, T. Iwatsu, Sh. Yurugi, *J. Vitaminol. (Osaka)*, **3**, 213 (1957); *C. A.*, **52**, 5423 (1958).
7. G. E. Bonvicino, D. J. Hennessy, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 6325 (1957).
8. T. Matsukawa, H. Hirano, T. Iwatsu, Sh. Yurugi, *J. Vitaminol. (Osaka)*, **3**, 218 (1957).
9. H. Hirano, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 1387 (1958); *C. A.*, **53**, 8145 (1959).
10. T. Iwatsu, *J. Pharm. Soc. Japan*, **75**, 677 (1955); *C. A.*, **50**, 3459 (1956).
11. Sh. Ioshida, M. Kataoka, *Pharm. Bull.*, **5**, 320 (1957); *C. A.*, **52**, 14588 (1958).
12. Ch. Kawasaki, I. Tomita, *Vitamins (Kyoto)*, **16**, 324 (1959).
13. Ch. Kawasaki, I. Tomita, T. Motoyama, *Vitamins*, **13**, 57 (1957); *C. A.*, **54**, 4595 (1960).
14. T. Motoyama, *Yakugaku Zasshi*, **79**, 115 (1959); *C. A.*, **53**, 8225 (1959).
15. Ch. Kawasaki, I. Tomita, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 1160 (1958); *C. A.*, **53**, 5273 (1959).

16. Ch. Kawasaki, I. Tomito, Yakugaku Zasshi, **79**, 295 (1959); C. A., **53**, 15090 (1959).
17. H. Takagi, T. Wada, S. Inada, Takamine Kenkyusho Nempo, **11**, 144 (1959).
18. H. Yonemoto, Yakugaku Zasshi, **77**, 1128 (1957).
19. M. Fujiwara, H. Watanabe, T. Matzukawa, S. Yurugi, T. Iwatsu, H. Kawasaki, Ам. пат. 2833768 (1958); C. A., **53**, 4317 (1959).
20. Япон. пат. 4970 (1959); C. A., **51**, 14282 (1960).
21. N. Yoshida, Y. Nakamura, Takamine Kenkyusho Nempo, **13**, 37 (1961).
22. H. Yonemoto, Yakugaku Zasshi, **78**, 1391 (1958); C. A., **53**, 8146 (1959).
23. H. Yonemoto, Япон. пат. 9268 (1959); C. A., **54**, 16472 (1960).
24. Sh. Kasahara, Chem. and Pharmac. Bull., **8**, 340 (1960).
25. H. Yonemoto, Yakugaku Zasshi, **78**, 472 (1958).
26. Sh. Kasahara, Там же, **77**, 1133 (1957).
27. H. Yonemoto, Там же, **79**, 143 (1959); C. A., **53**, 13168 (1959).
28. H. Yonemoto, Там же, **79**, 717 (1959).
29. M. Nagawa, M. Kataoka, T. Yoshioka, Takamine Kenkyusho Nempo, **13**, 20 (1961).
30. M. Asai, T. Konotsune, Там же, **13**, 45 (1961).
31. A. Ito, K. Okamoto, W. Hamanaka, K. Kawada, Там же, **13**, 48 (1961); C. A., **56**, 8697 (1962).
32. Sh. Yoshida, M. Kataoka, R. Takasaki, Япон. пат. 973 (1957); C. A., **52**, 4300 (1958).
33. Sh. Yoshida, M. Kataoka, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), **6**, 576 (1958).
34. T. Yoshioka, H. Ito, Takamine Kenkyusho Nempo, **13**, 35 (1961).
35. Sh. Yoshida, R. Takasaki, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), **6**, 527 (1958); C. A., **53**, 12291 (1959).
36. M. Kataoka, H. Ito, Takamine Kenkyusho Nempo, **13**, 24 (1961).
37. T. Yoshioka, M. Kataoka, Там же, **13**, 28 (1961).
38. R. Breslow, E. McNeilis, J. Am. Chem. Soc., **82**, 2394 (1960).
39. C. P. Nash, C. W. Olsen, F. G. White, L. R. Ingraham, Там же, **83**, 4106 (1961).
40. S. Tada, O. Nakayama, Япон. пат. 1899 (1958); C. A., **53**, 3613 (1959).
41. G. E. Bonivicino, D. J. Hennessy, Intern. Ztschr. Vitaminforsch., **30**, 97 (1959).
42. J. Utsumi, K. Harada, K. Kohno, H. Hirao, Vitamins, **27**, N 2, 135 (1963).
43. C. Inagaki, H. Fukuba, T. Miyakawa, S. Iwata, J. Vitaminol., **6**, 43, (1960); C. A., **54**, 21217 (1960).
44. A. Takamizawa, S. Nakajima, H. Sato, Yakugaku Zasshi, **79**, 399 (1959); C. A., **53**, 16139 (1959).
45. I. Utsumi, C. Kowacki, K. Harada, T. Baba, T. Takeuchi, Япон. пат. 96 (1959); C. A., **54**, 6770 (1960).
46. I. Uchimi, N. Tanaka, K. Harada, Япон. пат. 3995 (1959); C. A., **54**, 1568 (1960).
47. Япон. пат. 6726 (1959); C. A., **54**, 15405 (1960).
48. K. Okumura, Y. Sakurai, Shokutyo Kenkyusho Kenkyu Hokoku, **1956**, № 11, 65; C. A., **53**, 11551 (1959).
49. Япон. пат. 2295 (1959); C. A., **54**, 21132 (1960).
50. K. Ito, K. Inami, Япон. пат. 6991 (1958); C. A., **54**, 2380 (1960).
51. K. Kawahara, Y. Hochi, K. Tani, Япон. пат. 3347 (1959); C. A., **54**, 13152 (1960).
52. A. Takami, N. Tokuyama, S. Nakajima, S. Hayashi, H. Sato, Япон. пат. 699 (1961); C. A., **56**, 7446 (1962).
53. R. Yamamoto, T. Takahashi, Япон. пат. 2775 (1957); C. A., **52**, 4700 (1958).
54. A. Ito, K. Tokutake, Takamine Kenkyujo Nempo, **8**, 47 (1956); C. A., **52**, 297 (1958).
55. Хирано Хироси, Япон. пат. 11044 (1960); РЖХим., **1962**, 19Л157.
56. Н. Иосидзо, Япон. пат. 9196 (1961); РЖХим., **1962**, 19Л158.
57. R. Yamamoto, T. Takahashi, Япон. пат. 3879 (1957); C. A., **52**, 5757 (1958).
58. M. Yamagishi, Япон. пат. 6447 (1956); C. A., **52**, 8214 (1958).
59. Япон. пат. 786143 (1957); C. A., **59**, 8213 (1958).
60. R. Yamamoto, M. Harada, T. Takahashi, Ам. пат. 2820786 (1958); C. A., **52**, 10219 (1958).
61. G. Leichsessenring, Пат. ГДР 11163 (1956); C. A., **53**, 1389 (1959).
62. W. E. Stieg, Ам. пат. 2833769 (1958); C. A., **53**, 1388 (1959).
63. R. Yamamoto, T. Takagashi, Япон. пат. 4328 (1957); C. A., **52**, 5758 (1958).
64. H. Hirano, H. Yonemoto, Япон. пат. 16479 (1960); C. A., **56**, 3573 (1962).
65. M. Kataoka, S. Yoshida, M. Nagawa, Takamine Kenkyusho Nempo, **13**, 31 (1960); C. A., **55**, 6488 (1961).
66. M. Nagawa, Y. Baba, T. Yoshioka, Takamine Kenkyusho Nempo, **13**, 31 (1961).
67. K. Marayama, Sh. Morimura, Там же, **13**, 42 (1961).
68. M. Ohara, Vitamins, **27**, 393 (1963).

69. H. Kawasaki, S. Nogushi, Япон. пат. 3878 (1957); C. A., **52**, 5757 (1958).
70. H. Kawasaki, T. Iwatsu, S. Yurugi, Япон. пат. 3877 (1957); C. A., **52**, 5757 (1958).
71. S. Yurugi, H. Kawasaki, Япон. пат. 8030 (1956); C. A., **52**, 11970 (1958).
72. S. Yoshida, R. Takasaki, Япон. пат. 6132 (1957); C. A., **52**, 11968 (1958).
73. S. Yurugi, T. Fushimi, Yakugaku Zasshi, **78**, 602 (1958); C. A., **52**, 18423 (1958).
74. S. Yamada, T. Fujita, T. Mizoquchi, Япон. пат. 1832 (1957); C. A., **52**, 5487 (1958).
75. C. Yonemoto, Япон. пат. 13023 (1960); РЖХим., **1962**, 17Л234.
76. T. Wada, H. Takagi, H. Minakami, W. Hamanaka, K. Okamoto, A. Ito, I. Sahashi, Science, **134**, 195 (1961).
77. A. Ichibagase, Hukuoka Igaku Zasshi, **48**, 1413 (1957); C. A., **52**, 7545 (1958).
78. K. Kominato, Пат. ФРГ 1063334 (1959); C. A., **55**, 18025 (1961).
79. W. A. Volk, G. Ashwell, Bioch. Bioph. Res. Comm., **12**, 116 (1963).
80. J. A. Barone, H. Tieckelmann, R. Guthrie, J. F. Holland, J. Org. Chem., **25**, 24 (1960).
81. J. Biggs, P. Sykes, J. Chem. Soc., **1959**, 1849.
82. M. Horuishi, Yakugaku Zasshi, **78**, 1224 (1958); C. A., **53**, 5272 (1959).
83. J. Biggs, P. Sykes, J. Chem. Soc., **1961**, 2595.
84. T. Kusch, J. Heinrich, Ztschr. physiol. Chem., **315**, 177 (1959).
85. S. Yamada, K. Achiwa, Chem. a. Pharm. Bull., **9**, 119 (1961).
86. T. Okuda, C. C. Price, J. Org. Chem., **24**, 14 (1959).
87. A. M. Grimaldi, A. R. Day, Там же, **27**, 227 (1962).
88. H. C. Koppel, R. H. Springer, R. K. Robins, C. C. Cheng, J. Org. Chem., **27**, 3614 (1962).
89. В. М. Березовский, Химия витаминов, М., Пищепромиздат, 1959, стр. 415.
90. M. Thiel, F. Asinger, W. Stengler, Ann., **619**, 161 (1958).
91. G. Serchi, Chimica, **30**, 39 (1954).
92. G. Leichsennring, I. Schmidt, Ber., **95**, 767 (1962).
93. Y. Nose, K. Ueda, T. Kawasaki, J. Vitaminol., **7**, 92 (1961); Vitamin abstracts, **15**, N 1, 12 (1961).
94. L. M. Lewin, G. M. Brown, J. Biol. Chem., **236**, 2768 (1961).
95. M. J. Verrett, L. R. Cerecedo, J. Org. Chem., **22**, 1695 (1957).
96. J. Würsch, Helv. chim. Acta, **41**, 46 (1958).
97. E. J. Maxion, Ам. пат. 2799676 (1957); C. A., **52**, 1284 (1958).
98. S. Yoshida, W. Ishizuka, M. Kataoka, Япон. пат. 10232 (1956); C. A., **52**, 15599 (1958).
99. S. Yoshida, W. Ishizuka, Япон. пат. 8285 (1956); C. A., **52**, 11950 (1958).
100. O. Shimura, Япон. пат. 18770 (1961); C. A., **57**, 13763 (1962).
101. H. Hirano, Yakugaku Zasshi, **77**, 1004 (1957); C. A., **52**, 3828 (1958).
102. A. Takamisawa, S. Hayashi, K. Togi, Япон. пат. 2622 (1959); C. A., **54**, 13152 (1960).
103. A. Takamisawa, K. Tokuyama, Япон. пат. 3325 (1959); C. A., **54**, 13152 (1960).
104. A. Takamisawa, K. Tokuyama, Япон. пат. 6122 (1959); РЖХим., **1962**, 6Л289.
105. М. Диксон, Э. Уэбб, Ферменты, ИЛ, 1960.
106. R. Abderhalden, Ztschr. für Vitamin-, Hormon- und Fermentforsch., **12**, № 2/3, 83 (1962).
107. W. Langenbeck, Ergeb. d. Enzymforsch., **2**, 314 (1933).
108. F. Lipmann, Nature, **138**, 1097 (1937).
109. R. Breslow, J. Am. Chem. Soc., **80**, 3719 (1958).
110. R. Breslow, Chem. a. Ind., **1957**, 893.
111. R. Breslow, J. Am. Chem. Soc., **79**, 1762 (1957).
112. L. O. Krampitz, G. Greull, C. S. Miller, I. B. Bicking, H. R. Skeggs, I. M. Sprague, Там же, **80**, 5893 (1958).
113. F. La Fonseca-Wollheim, K. W. Bock, H. Holzer, Bioch. Bioph. Res. Comm., **9**, 467 (1962).
114. K. W. Bock, L. Jaenicke, H. Holzer, Там же, **9**, 472 (1962).
115. N. N. Prochoroff, R. Kattermann, H. Holzer, Там же, **9**, 477 (1962).

Всесоюзный научно-исследовательский
витами́нный институт