

УДК 547.86 : 577.16 : 615.857.064.11

## УСПЕХИ ХИМИИ ТИАМИНА

А. М. Юркевич

## ОГЛАВЛЕНИЕ

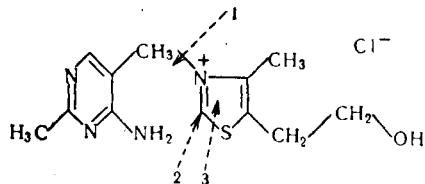
I. Введение . . . . .	418
II. Реакции без расщепления тиазолиевого ядра . . . . .	419
III. Реакции, приводящие к расщеплению тиазолиевого ядра . . . . .	421
IV. Ацилирование тиамина и его производных . . . . .	424
V. Тиамин-протеиновые комплексы . . . . .	426
VI. Производные тиамина . . . . .	426
VII. Развитие промышленных способов синтеза витамина В <sub>1</sub> . . . . .	430
VIII. Механизм действия витамина В <sub>1</sub> . . . . .	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 находящих различное клиническое применение. 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-моноfosфат S-бензоилтиамина и др.) и выяснить механизм биохимического действия витамина В<sub>1</sub>.

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 тиазолиевого 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 недавно<sup>1</sup>, позволил установить интересные особенности пространственного строения витамина. На рисунке изображена проекция его пространст-

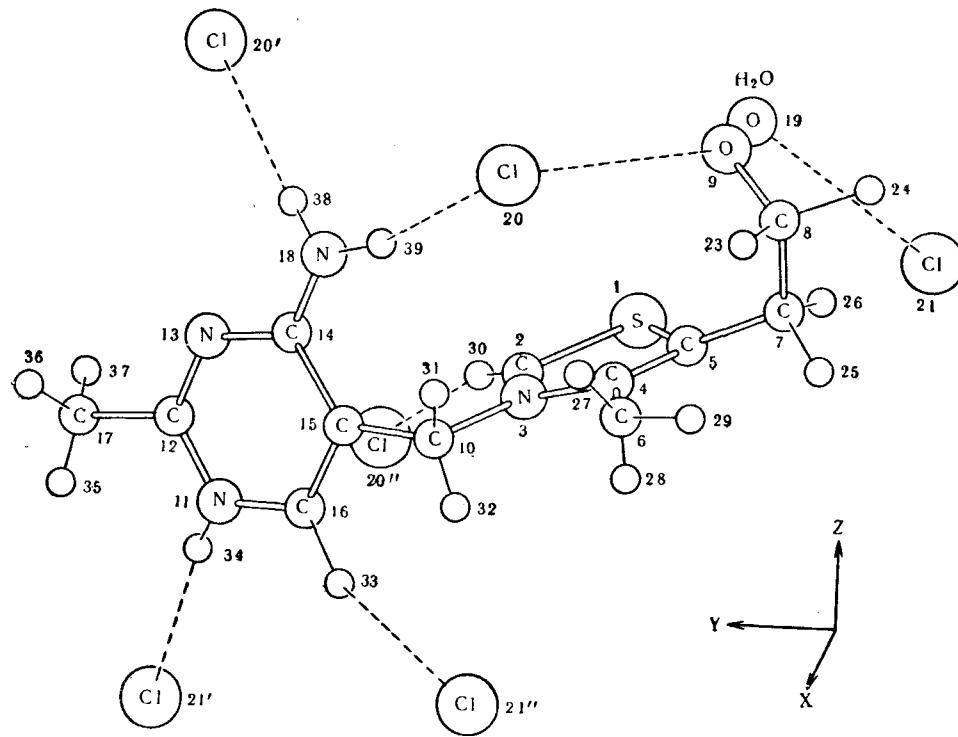


Рис. 1. Пространственная модель витамина В<sub>1</sub>

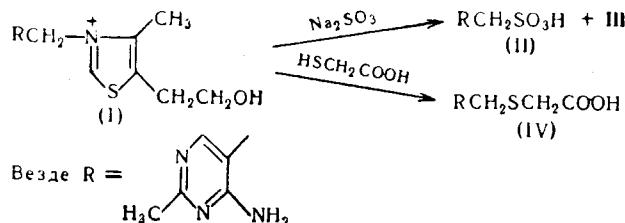
венной модели. Плоскости пиридинового и тиазолиевого ядер расположены друг относительно друга под углом 76°; такое взаиморасположение ядер приводит к тому, что второе положение тиазола не экранировано амино-группой.

## II. РЕАКЦИИ БЕЗ РАСЩЕПЛЕНИЯ ТИАЗОЛИЕВОГО ЯДРА

### 1. Сульфитное расщепление тиамина

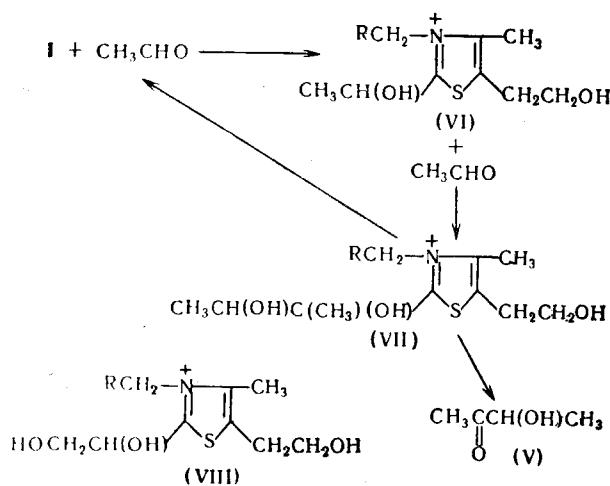
Сульфитное расщепление тиамина (I) приводит к образованию 2-метил-4-аминопиримидил-5-метилсульфокислоты (III) и 4-метил-5-оксиэтилтиазола (III). Недавно эта реакция была вновь изучена<sup>2</sup>. Оказалось, что она специфична для производных тиамина, содержащих четвертичный атом азота. Так, в сильнощелочных растворах, в которых тиамин существует в тиольной форме, расщепления витамина не наблюдалось. Гидрированные производные тиамина (с третичным атомом азота тиазолинового 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)<sup>3</sup>.



## 2. Реакции тиамина с карбонильными соединениями

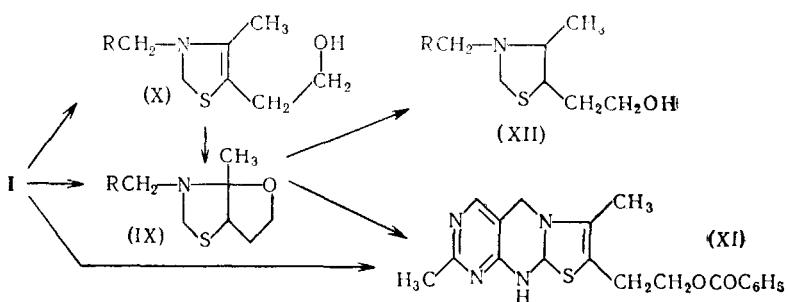
Взаимодействие тиамина с карбонильными соединениями проходит как типичная реакция электрофильного замещения. Исследование этой реакции позволило установить роль производных тиазолия как природных катализаторов альдольной конденсации. Манцухара<sup>4</sup> впервые наблюдал, что при взаимодействии пировиноградной кислоты и тиамина в слабощелочной среде (рН 8,5) образуется ацетоин (V). Конденсация тиамина с ацетальдегидом в этих условиях приводит к образованию « $\alpha$ -оксиэтилтиамина» (VI), у которого оксиэтильная группа присоединяется во втором положении тиазольного кольца. Кроме того, образуется и другое соединение, которое, как оказалось, имеет строение «ацетоинтиамина» (VII)<sup>5</sup>. Таким образом, путь образования ацетоина из ацетальдегида в неферментативных процессах описывается следующими реакциями:



Реакция имеет общий характер<sup>5</sup> — формальдегид в этих условиях дает (диоксиэтил)-производное тиамина (VIII). Аналогичная реакция с гликолевым альдегидом или с окиспировиноградной кислотой приводит к образованию смесей сахаров.

## 3. Гидрирование тиамина

Исследование свойств дигидротиамина, образующегося при гидрировании тиамина<sup>10</sup>, показало, что это соединение на самом деле имеет строение пергидрофуротиазолина<sup>6</sup> (IX), что было подтверждено сравнением ИК-спектров дигидротиамина с веществами, обладавшими аналогичным строением. Лишь очень осторожное восстановление тиамина при помощи  $\text{NaB}(\text{OCN}_3)_3\text{H}$  дало изомерный дигидротиамин (X), про-

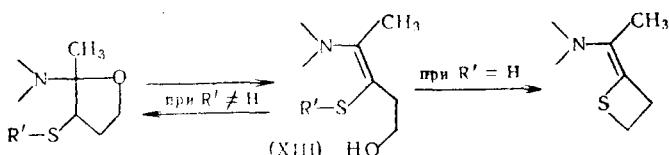


стоя нагревание которого в воде вызывало замыкание гидрированного фуранового цикла<sup>7</sup>. Кроме этих веществ, при гидрировании получают еще и псевдодигидротиамин, который, как оказалось, является производным пиримидо-[4,5-*d*]-тиазоло-[3,4-*a*]-пиридина<sup>8</sup>. Бензоилирование дигидротиамина в пиридине приводит к образованию бензоата псевдоформы (XI)<sup>11</sup>. Восстановление тиамина и дигидротиамина  $\text{NaBH}_4$  дало тетрагидротиамин (XII)<sup>9</sup>.

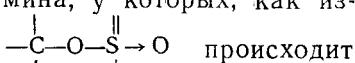
### III. РЕАКЦИИ, ПРИВОДЯЩИЕ К РАСЩЕПЛЕНИЮ ТИАЗОЛИЕВОГО ЯДРА

#### 1. Инактивация тиамина, образование ангидрида тиамина

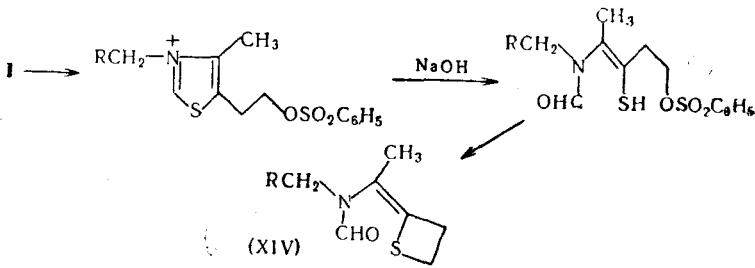
Тиамин гидролизуется в щелочных средах в тиольные формы витамина, производные ненасыщенного тиола. Свойства этих производных определяются специфической группировкой атомов (XIII), присутствующей во всех этих соединениях:



Она подвержена различным перестройкам, которые проходят в мягких условиях. При участии второй валентности серы в образовании тиазолинового цикла — наблюдается легкое замыкание пергидрофуротиазолинового 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

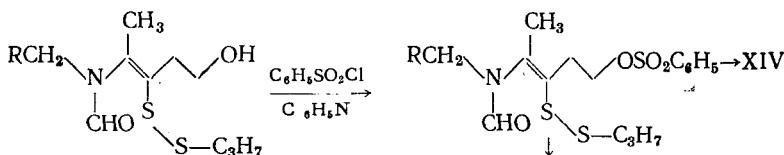


легко между атомами углерода и кислорода. Поэтому, в противоположностьmonoфосфорнокислому эфиру тиамина, его замещенные сульфонаты чрезвычайно неустойчивы, и в щелочной среде претерпевают глубокие и необратимые изменения. Найдено, что инактивация тиамина протекает в растворе щелочи уже после добавления 1—3 капель бензольсульфохлорида<sup>12</sup>. Затем выяснилось, что при такой обработке витамина образуется вещество, имеющее эмпирическую формулу  $C_{12}H_{16}ON_4S$ . 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)<sup>13</sup> и названо ангидридом тиамина:



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

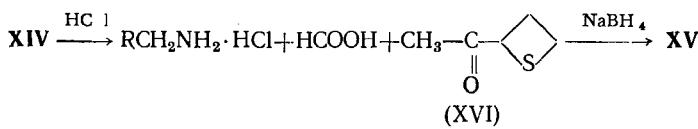
При осторожном действии алкил- или арилсульфохлоридов на тиаминхлорид, или на тиаминалкилдисульфида на холду в пиридине образуются соответствующие сульфонаты тиаминдисульфидов<sup>15</sup>:



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

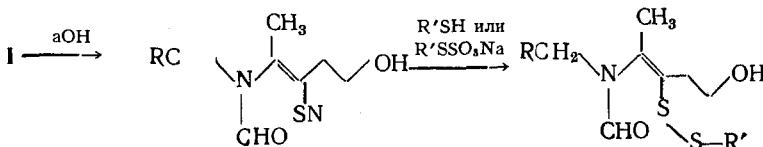
Для выяснения механизма этой реакции изучали поведение в щелочной среде бензолсульфонатов тиамина и тиаминдисульфида. Оказалось, что первый эфир легко, уже при pH 8, превращается в ангидрид тиамина, в то время как для разложения второго требуется более концентрированная щелочь<sup>16</sup>. Обработка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

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

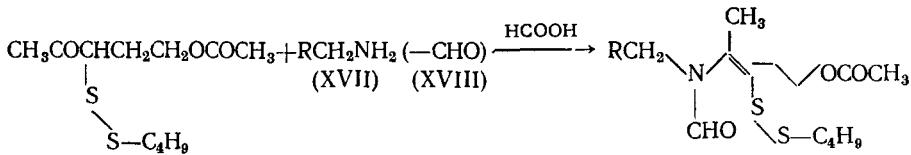


## 2. Несимметричные дисульфиды тиамина

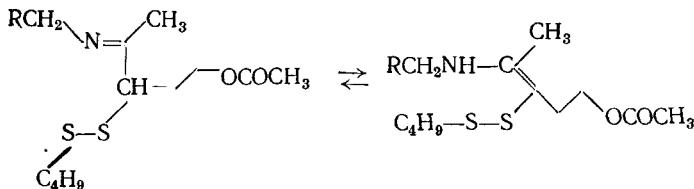
Одной из важнейших реакций тиольной формы витамина В<sub>1</sub> является образование дисульфидных производных тиамина. При действии на тиамин алкил-, арил- или аралкилмеркаптанами или органическими тиосульфатами образуются соответствующие тиаминалкил-, тиаминарил- или тиаминааралкилдисульфины, обладающие витаминной активностью<sup>19</sup>:



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



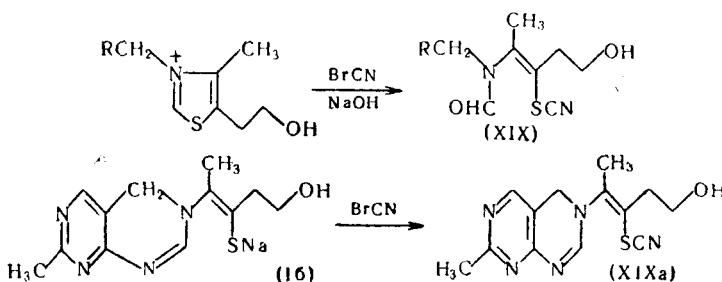
Следует отметить, что указанный синтез предполагает в качестве вероятной промежуточной стадии таутомерное превращение:



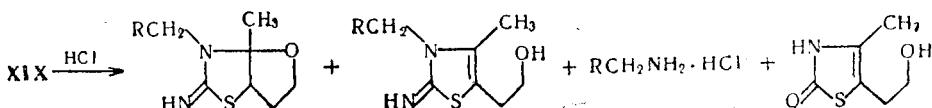
Алкилирование тиаминмононитрата трифенилхлорметаном и производными хлористого бензила привело к образованию тиаминбензилсульфидов<sup>21</sup>.

### 3. Цианотиамин и его превращения

Действие бромциана в щелочных растворах на тиамин приводит к глубоким изменениям витамина, происходит расщепление тиазольного ядра и образуется так называемый «цианотиамин» (XIX)<sup>22, 26</sup> — новая жирорастворимая форма тиамина<sup>23</sup>. Показано также<sup>24</sup>, что циклический тиол витамина В<sub>1</sub> (Iб) превращается при действии бромциана в соответствующий тиоцианат, названный «нецианотиамином» (XIXa). Реакция эта была подробно исследована, изучалось влияние различных заместителей и было показано, что она имеет довольно общий характер для солей тиазоля, имеющих различные замещающие группы в 3,4- и 5- положениях:

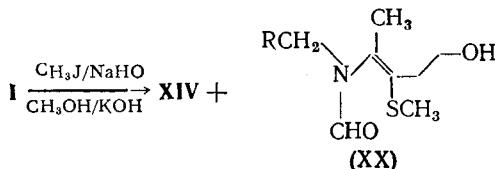


Гидролиз ненасыщенного тиоцианата, образовавшегося из 3-бензил-4-метил-5-( $\beta$ -оксиэтил)-тиазолия, привел к 2-амино-3-бензил-3-а-метил-5,6,7,8-тетрагидрофуро-[2,3-*d*]-тиазолу, выделенному в виде пикрата. Аналогичная обработка «цианотиамина» (XIX) привела к образованию смеси различных соединений<sup>25</sup>:

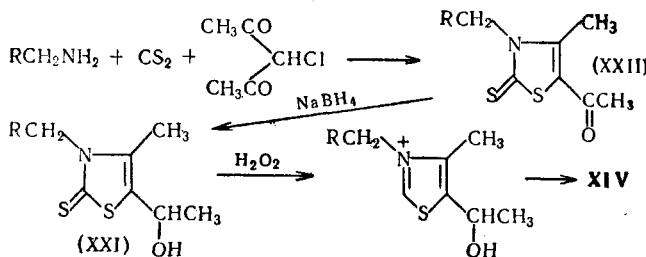


Нагревание «цианотиамина» (XIX) с органическими кислотами также приводит к расщеплению и образованию смеси различных продуктов ацилирования<sup>25</sup>. Кипячение его в бутиловом спирте дает ангидрид тиамина (XIV)<sup>22</sup>.

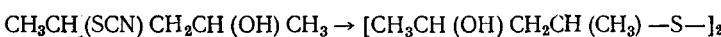
В дальнейшем реакция инактивации «цианотиамина» (XIX) и превращения его в ангидрид тиамина (XIV) была подробно исследована<sup>27</sup>. Оказалось, что при действии на «цианотиамин» (XIX) метанольного раствора щелочи также образуется ангидрид; одновременно выделено S-метильное производное тиола B<sub>1</sub> (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 тиазолиевому ядру ( $\alpha$ - или  $\beta$ -). Из 5-( $\alpha$ -оксиэтил)-тиамина (XXI) также образуется ангидрид тиамина (XIV). Это соединение было получено из соответствующего 5-ацетилтиазолинтиона-2 (XXII)<sup>27</sup>.



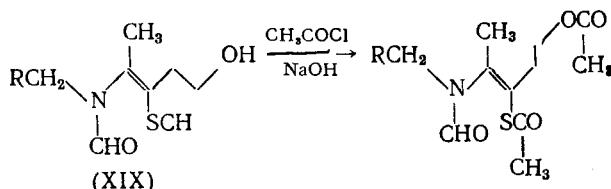
Наличие серы у двойной связи — обязательное условие образования тиациклобутанового кольца; так из 2-тиоцианопентанола-3<sup>27</sup>, так же как и из других алкилтиоцианатов в метанольном растворе щелочи образовались лишь дисульфиды<sup>28</sup>:



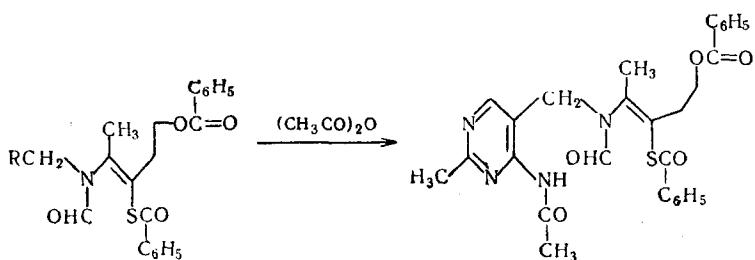
#### IV. АЦИЛИРОВАНИЕ ТИАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Ацилированием О-монофосфата тиамина были получены многочисленные тиоацильные производные (S-p-нитробензоил-, S-p-хлорбензоил-, S-p-толуил-, S-фенилацетил-, S-циннамоил-, S-фуроил-, S-фуранакрилоил-, S-теноил-, S-бутироилпроизводные)<sup>29</sup>. При действии на S-ароилтиамины дигидропирана получили простые эфиры витамина — O-тетрагидропиридин-S-ароилтиамины<sup>21</sup>.

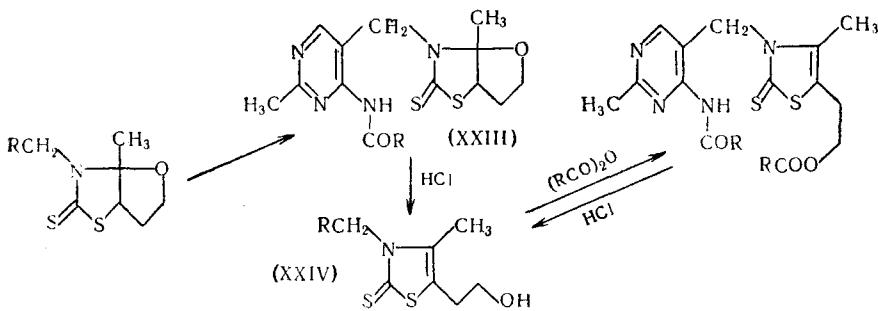
Ацилирование «цианотиамина» (XIX) хлорангидридами кислот приводит к O,S-диацилтиаминам<sup>30</sup>:



Устойчивость S-ацилпроизводных тиамина 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 ацилтиаминов<sup>31</sup>. Ацилирование O,S-дibenzoилтиамина и O,S-диацетилтиамина уксусным ангидрилом приводит к образованию N-ацетил-O,S-дibenzoилтиамина и N,O,S-триацетилтиамина<sup>32</sup>. Аналогичным образом получают и другие N-ацилпроизводные<sup>33</sup>. В то же время обработка S-бензоилтиамина янтарным ангидридом привела к O-сукцинил-S-бензоилтиамину<sup>34</sup>.

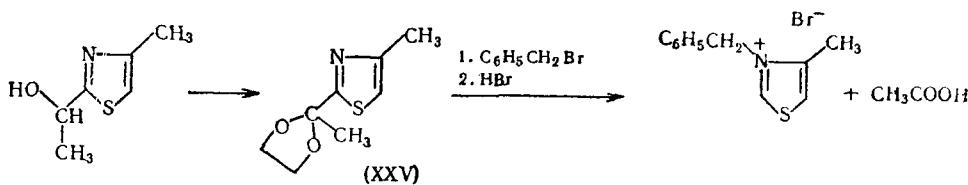


Изучены реакции ацилирования одного из важнейших промежуточных продуктов синтеза тиамина, замещенного тиона, 3-(пиримидилметил)-тиазолина, так называемого «тиотиамина» (XXIV)<sup>35</sup>. Оказалось, однако, что эти реакции не могут быть использованы для синтеза биологически важных N-ацилтиаминов, так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



В то же время образующиеся из «тиотиамина» (XXIV) при его фосфорилировании диэтил- и дифенилfosфаты оказались устойчивыми к действию перекиси водорода и были легко превращены в соответствующие замещенные fosфаты тиамина<sup>36</sup>. Удалось также профосфорилировать S-бензоилтиамин-, в результате синтезировали O-(морфолидофосфаты)-S-бензоилтиамина<sup>37</sup>.

2-C-Ацильные производные тиамина до сих пор не получены вследствие их неустойчивости<sup>38</sup>. При окислении 2-(α-оксиэтил)-4-метилтиазола получен в виде диоксоланового производного 2-ацетил-4-метилтиазол (XXV), превращенныйベンзилированием 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-диметилтиазоля очень велика<sup>39</sup>. 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 тиамина на казеине получен устойчивый комплекс<sup>40</sup>. Денатурированный белок молока и овальбумин образуют с тиаминдисульфидом тиамин и недиализуемые белково-тиаминовые комплексы<sup>41</sup>, имеющие 90% активности витамина.

Как показали дальнейшие исследования<sup>42</sup>, комплекс этот имеет дисульфидное строение, так как при действии на него цистеина или тиосульфата натрия освобождается витамин.

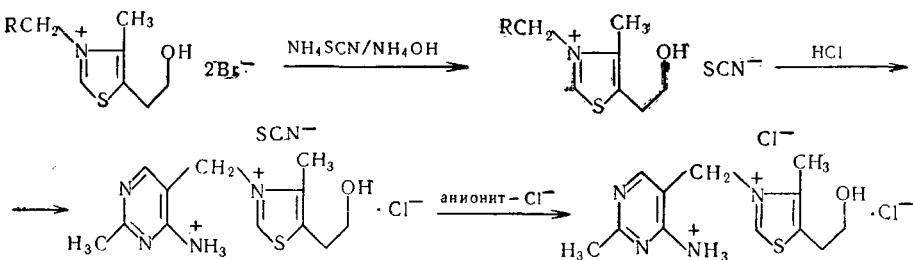
Белок соевого молока после замораживания и оттаивания прочно удерживал тиамин<sup>43</sup>. Исследовалась адсорбция различных производных тиамина: хлоргидрата, нитрата, роданида, дигексадецилсульфата и дibenзоата. Оказалось, что все эти производные прочно связывались белком и были выделены после обработки протеиназой и таракиастазой и кислотного гидролиза адсорбата. После денатурации белка способность к адсорбции изменялась при действии раствора гидроксиамина; *p*-хлормеркубензоат не изменял этого свойства. Отсюда сделан вывод, что активный центр белка, ответственный за связывание тиамина, содержит карбонильную группу. Следует отметить, что тиаминдиfosfat также довольно прочно связан с апоферментом. Хотя константа сродства тиаминдиfosfата к карбоксилазе составляет  $3,3 \cdot 10^{-6}$ , диссоциация фермента протекает с очень низкой скоростью<sup>4</sup>. В литературе отсутствуют другие количественные данные, характеризующие связь тиамина с белком.

## VI. ПРОИЗВОДНЫЕ ТИАМИНА

### 1. Соли и эфиры тиамина

Синтезам различных солей и производных тиамина за последние годы посвящено много работ<sup>44-60</sup>. Описаны десятки производных витамина В<sub>1</sub>. Среди них различные галогениды витамина. Частичной нейтрализацией хлорида хлоргидрата тиамина, так называемого хлорида тиамина, до pH 6 и высаливанием соответствующими солями были получены моносоли, в том числе мононитрат тиамина, который нашел большое применение в клинической практике<sup>44</sup>. Этот препарат, наряду с другими солями, может быть получен и ионообменным методом<sup>61</sup>.

Сначала бромгидрат бромида тиамина обработкой роданистым аммонием в  $\text{NH}_4\text{OH}$  превращают в роданид тиамина, который растворяют в соляной кислоте и пропускают через анионит



Таким образом получают хлориды и другие соли тиамина.

Описан способ превращения бромгидрата бромида витамина  $\text{B}_1$  в хлоргидрат хлорида, основанный на большей летучести бромистых алкилов, образующихся при обработке первого безводным хлористым водородом в низших алифатических спиртах<sup>62</sup>.

Действием концентрированной соляной кислоты на галогениды тиамина и осаждением ацетоном получены хлоргидраты бромида и иодида тиамина<sup>52</sup>. Синтезированы и изучены сульфат<sup>47</sup>, а также различные алкил- и арилсульфонаты тиамина<sup>48-51</sup>. Сульфат тиамина получен при действии на его хлоргидрат хлорсульфоновой кислоты<sup>47</sup>.

Большинство замещенных сульфонатов малорастворимы в воде. Синтезированы следующие соли тиамина: 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-дисульфонат<sup>54</sup>.

Соли тиамина и дибензоилтиамина с циклогексилсульфаминовой кислотой довольно устойчивы<sup>51</sup>.

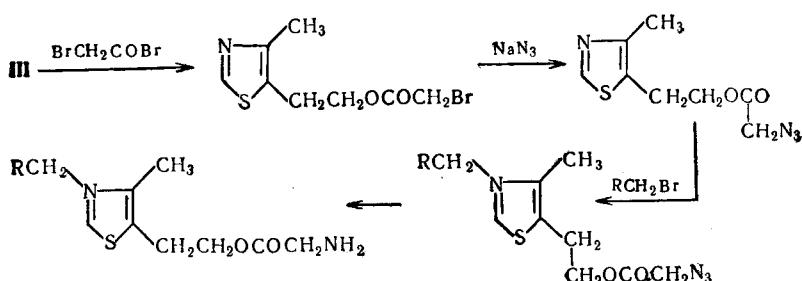
Тиаминдицетилсульфонат, мало растворимый в воде, более устойчив, чем хлорид тиамина при нагревании и может быть с успехом использован для витаминизации хлеба и других пищевых продуктов.

Обменным разложением комплекса  $\text{B}_1$  — эозин с кислотами также получают соответствующие соли: сульфат, фумарат, нитрат, хлорид, бромид, иодид, оксалат, сахаринат, дицетилсульфонат<sup>53</sup>.

Получены различные соли тиамина с органическими кислотами: моносахаринат<sup>57</sup>, дисахаринат<sup>63</sup>, танинат<sup>58</sup>, салицилат и различные его производные<sup>59</sup>, соль с глицеризиновой кислотой, выделенной из *Clytostomula uralensis*<sup>56</sup>, а также тиаминовые производные гибберелина<sup>64</sup>, лаурилфосфат<sup>45</sup> и другие соли, такие как тетрафенилборат<sup>46</sup>. Получена окрашенная соль тиамина и кислого сульфопиразолинового азокрасителя<sup>60</sup>.

Синтезированы различные эфиры бромгидрата и хлоргидрата тиамина: каприловой, лауриновой, миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, янтарной, фталевой кислот<sup>65</sup>. Эфиры, особенно пальмитат, хорошо усваиваются животными<sup>17</sup>.

Большой интерес представляют также попытки получения аминокислотных и углеводных производных тиамина. Из 4-метил-5-( $\beta$ -ацидо-ацетокси)-тиазола и 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидина получили ацетоксиазидотиамин, восстановление которого дало глицинат тиамина, аналогично синтезировали его бензилоксикарбонильные производные<sup>66</sup>.



Из хлоргидрата О-бензоилтиамина и  $\alpha$ -ацетобромглюкозы был синтезирован S- $\beta$ -D-глюкозид тиамина<sup>67</sup>.

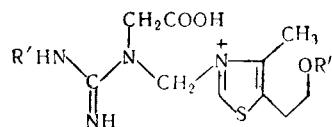
## 2. Производные тиола тиамина

За последние годы появились сообщения о выпуске новых видов препаратов витамина В<sub>1</sub>, являющихся производными тиольной формы тиамина. Синтезированы десятки несимметричных дисульфидов<sup>68-76</sup>. Из них в качестве новых витаминных препаратов японскими исследователями предложены: тиаминпропилдисульфид — структурный аналог аллилтиамина, тиаминтетрагидрофурилдисульфид, а также тиамин(-8-метил-6-ацетилдигидроциклоактоат)-дисульфид<sup>68</sup>. Синтезы этих препаратов приводят по описанным выше схемам.

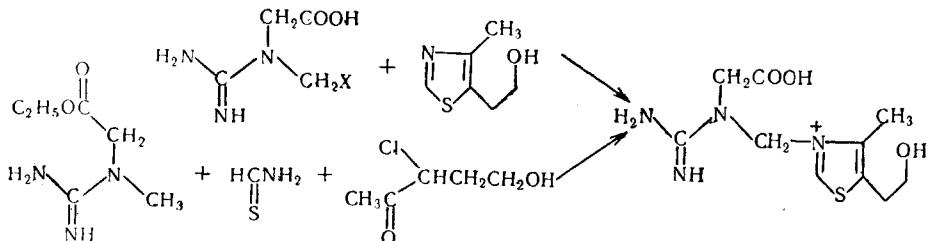
Из моноfosфорного эфира «цианотиамина» (XIX) получен новый эффективный препарат — О-моноfosфат, S-бензоилтиамина<sup>30</sup>. Обработка «цианотиамина» (XIX) и его О-бензоилпроизводного меркаптанами приводит к соответствующим тиаминдисульфидам<sup>75</sup>. Установлено, что тиаминаллил-, тиаминпропилдисульфиды, S,O-диацетилтиамин и S,O-дibenзоилтиамин более легко поглощаются в кишечнике, чем тиаминхлорид, в то же время наиболее высокий уровень витамина В<sub>1</sub> в крови способен поддерживать тиаминпропилдисульфид<sup>77</sup>.

## 3. Новые природные соединения, близкие тиамину

Недавно описаны два новых природных соединения, выделенные из японского чеснока<sup>78</sup>. 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 В<sub>1</sub>, и вместо пириддинового остатка — группировку креатина. Синтез структурного ядра скордининов был осуществлен двумя способами:



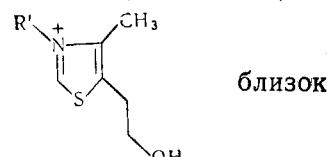
Оба соединения отличаются друг от друга лишь замещающими группами R' и R'', строение которых точно не установлено. Известно лишь, 428

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-дизексигексоза, которая, аналогично нуклеозиддифосфат-сахарам, является донором гликозидных остатков в биосинтезе экзополисахарида *Xanthomones Campestris*<sup>79</sup>.

#### 4. Аналоги тиамина

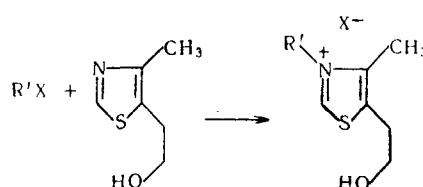
Исследование зависимости между строением и биологической активностью производных тиамина уже давно привело к синтезу пиритиамина и других веществ, которые обладали свойствами антивитаминов. Систематический синтез различных аналогов тиамина позволил наметить некоторые связи между строением и биологической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

синтезированный аналог общей формулы



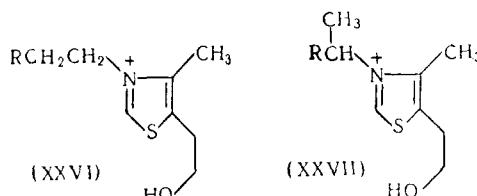
близок

по объему и конфигурации к природному витамины. 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 свойствами<sup>80</sup>. Например, этот препарат подавлял развитие лейкемии и рост трансплантированной карциномы у мышей при диете с недостаточностью витамина В<sub>1</sub>. Синтезированы гомологи тиамина (XXVI) и (XXVII):



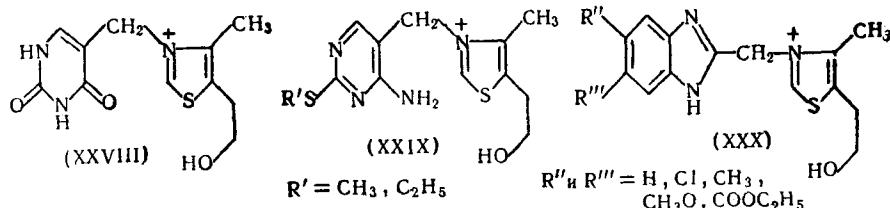
При исследовании каталитических свойств этих соединений на модельной системе, воспроизводящей синтез ацетона (V), оказалось, что первое из них (XXVI) имеет 67% активности, а второе (XXVII) — 5% активности тиамина<sup>81</sup>. Ни один из гомологов не обладал витаминной активностью в микробиологических пробах с *Kloeckera brevis*.

6-Метилтиамин имел около одной трети активности<sup>82</sup>, по другим данным его активность составила 18% от активности тиамина<sup>83</sup>.

В реакциях декарбоксилирования были изучены производные витамина В<sub>1</sub>, у которых метильная группа во втором положении была замещена на этильную, метоксиметильную, β-этоксиэтильную, феноксиметильную и α-бромометильную группу. Оказалось, что большинство этих

соединений неактивны. Исключение составили лишь  $\beta$ -этоксиэтилтиамин, активность которого в декарбоксилазной реакции была понижена, и метоксиметилтиамин, который вел себя как антивитамин<sup>84</sup>.

Синтезированы гетероциклические аналоги тиамина — производные 2',4'-диоксо-5'-пиримидилметилтиазолия<sup>85</sup> (XXVIII) тиопиримидиновые аналоги [например «метиоприм» (XXIX)<sup>86</sup>], а также бензимидазольные<sup>87</sup> аналоги (XXX).

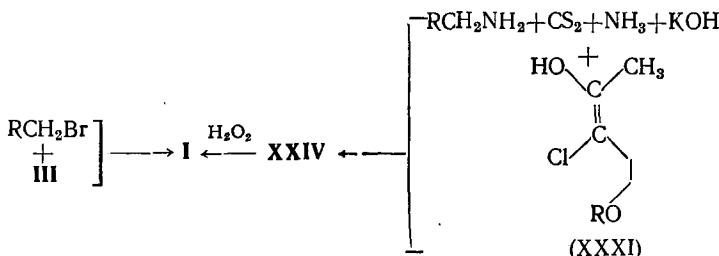


Необходимо отметить, что построение аналогов по принципу изостерического ингибирования, оказавшееся во многих случаях при поисках лекарственных веществ столь эффективным, еще не дало в области тиамина каких-либо практических результатов, что свидетельствует прежде всего о высокой специфичности химического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

Все же открытие и установление строения природного антибиотика бацинетрина (из *Vaccinium megaterium*), активного против дрожжей и бактерий, который, как оказалось, идентичен с 4-амино-5-оксиметил-2-метоксиметилпиридином<sup>88</sup>, дает основание надеяться, что и в этой области можно ожидать практических успехов.

## VII. РАЗВИТИЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ СПОСОБОВ СИНТЕЗА ВИТАМИНА $B_1$

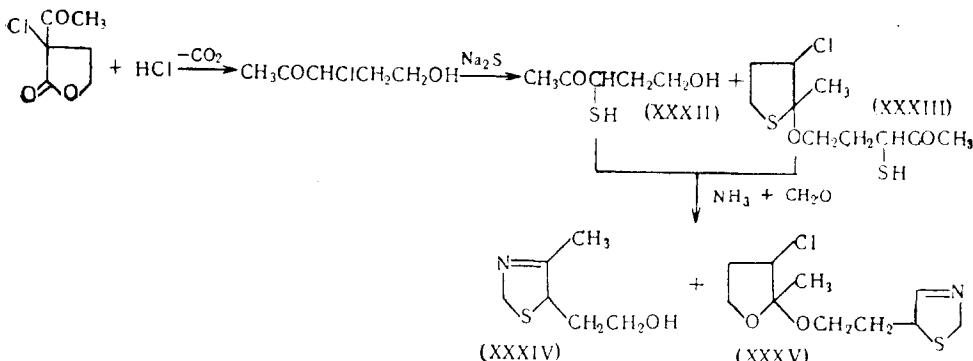
Различные варианты синтеза тиамина подробно описаны ранее<sup>89</sup>. Известно, что существует два основных направления, по которым строится производство витамина  $B_1$  в разных странах: 1) синтезы витамина из 5-бромметилпиридинина и 4-метил-5-( $\beta$ -оксиэтил)тиазола и 2) синтезы витамина через 3-N-(2'-метил-4'-амино-5'-пиридинилметил)-4-метил-5-( $\beta$ -оксиэтил)-2-тиотиазолон (XXIV) (так называемый «тиотиамин»). История появления второго промышленного метода синтеза витамина  $B_1$  в Японии связана с борьбой японских и американских фармацевтических форм за рынки сбыта. Следует отметить, что, хотя в СССР и организовано крупное производство витамина  $B_1$ , окончательный выбор того или иного варианта метода синтеза в нашей стране еще не сделан. Новые исследования в области синтеза витамина  $B_1$  развиваются эти два традиционных направления.



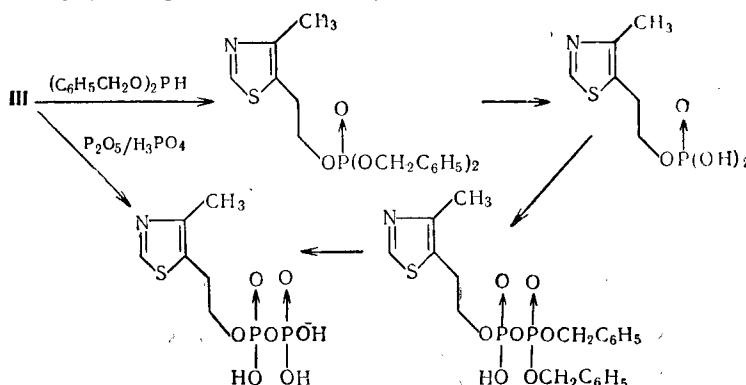
### 1. Синтез из 4-метил-5-( $\beta$ -оксиэтил)тиазола

Описан новый вариант синтеза тиазольного компонента тиамина<sup>90</sup>, по которому исходят из  $\alpha$ -хлор- $\alpha$ -ацетил- $\gamma$ -бутиролактона. Обработкой этого соединения концентрированной соляной кислотой получают  $\gamma$ -хлор- $\gamma$ -ацетопропиловый спирт, на который действуют спиртовым

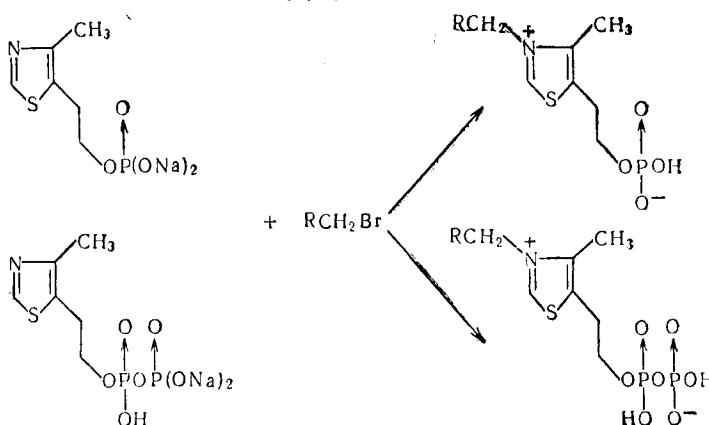
раствором сернистого натрия. В результате получают смесь  $\gamma$ -меркапто- $\gamma$ -ацетопропилового спирта (XXXII) и 2-(3'-ацетил-3'-меркаптопропилокси-2-метил-3-хлортетрагидрофуран) (XXXIII). Обработка XXXIII параформом и аммиаком, наряду с уротропином, дала смесь 4-метил-5-( $\beta$ -оксиэтил)-3-тиазолина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



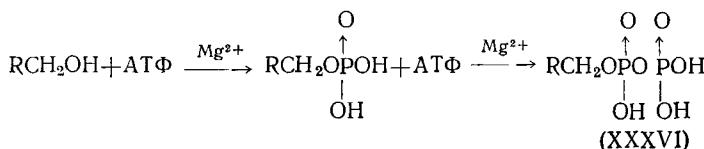
В дополнение к известным способам получения тиаминмоно- и дифосфатов (ТМФ и ТДФ), которые сводятся к обработке тиамина пи-роfosфорной кислотой с последующим хроматографическим разделением продуктов фосфорилирования на колонках<sup>91</sup>, недавно описан новый метод получения фосфатов тиамина<sup>92</sup>. Сначала различными способами фосфорилируют 4-метил-5-( $\beta$ -оксиэтил)тиазол (III).



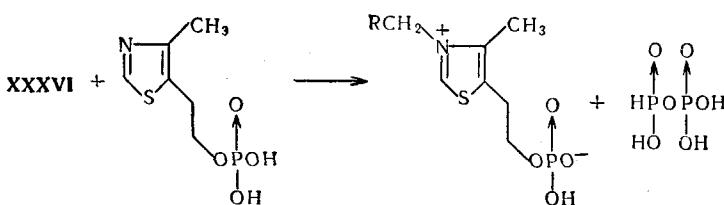
Затем полученные моно- или дифосфорные эфиры тиазола конденсируют с 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидином, при этом образуются с высокими выходами ТМФ и ТДФ.



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 тиамина<sup>93</sup>. Фермент этот активировался АТФ. Принимается<sup>94</sup>, 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



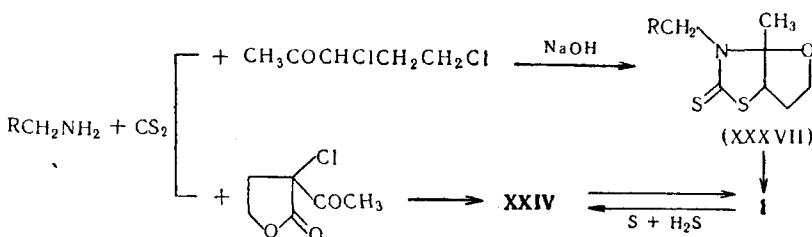
полученный дифосфат вступает в реакцию с монофосфатом тиазола, в свою очередь образующегося при фосфорилировании 4-метил-5-(β-оксиэтил)-тиазола; при этой реакции образуется ТМФ. Гидролиз фосфоэфирной связи приводит к тиамину.



Описано несколько вариантов синтеза меченого S<sup>35</sup>-тиамина, представляющих повторение различных способов, известных ранее<sup>95, 96</sup>.

## 2. Синтез витамина В<sub>1</sub> через «тиотиамин»

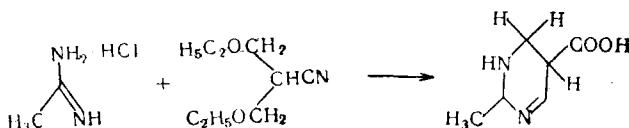
Описаны различные варианты получения тиона тиазолина — «тиотиамина» (XXIV)<sup>97</sup>. Конденсация 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (XVII) и сероуглерода с α,γ-дихлор-γ-акетопропаном (XXXI) приводит к образованию (2-метил-4-амино-5-пиримидил)-метил-4-метилтетрагидрофуро-[2,3-*d*]-тиазолидинтиона-2 (XXXVIII), окислением которого получили тиамин<sup>98, 99</sup>:



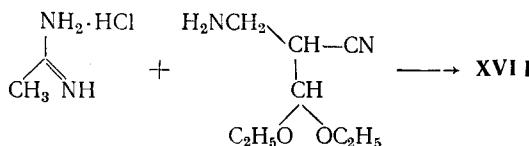
Если обрабатывать «тиотиамин» (XXIV) перекисью водорода в присутствии карбонатов щелочно-земельных металлов<sup>100</sup>, образуются моносоли тиамина — монохлорид, моноиодид, мононитрат и монороданат.

Превращение «тиотиамина» в тиамин, как оказалось, представляет обратимую реакцию. Если нагревать тиамин с серой или с сероводородом, происходит образование «тиотиамина»<sup>101</sup>.

Большое внимание при дальнейшем совершенствовании метода синтеза через «тиотиамин» было уделено изучению различных вариантов синтеза 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (XVII) из производных  $\beta$ -алкокси- или  $\beta$ -аминопропионитрилов. Показано, что  $\alpha$ -этоксиметил- $\beta$ -этоксипропионитрил с ацетамида дает 2-метил-3,4-дигидропиримидинкарбоновую-5 кислоту<sup>102</sup>:



С выходом ~60% пиримидин (XVII) был получен из  $\alpha$ -диэтоксиметил- $\beta$ -аминопропионитрила и ацетамида<sup>103</sup>:



Аналогичный результат получен при нагревании в автоклаве при 140—150° смеси ацетамида с  $\alpha$ -этоксиметилен- $\beta$ -этоксипропионитрилом и последующем гидролизе 10%-ным раствором щелочи<sup>104</sup>.

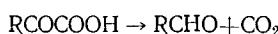
### VIII. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНА В<sub>1</sub>

Изучение реакций тиамина 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 В<sub>1</sub>.

Как известно, тиамин в организме подвергается фосфорилированию и в виде дифосфорного эфира участвует во многих биокатализитических процессах. Пирофосфат тиамина, или, правильнее, дифосфат тиамина (ТДФ) входит в состав многих ферментов, выполняя роль простетической группы или кофермента, довольно прочно связанного с апоферментом — белком<sup>105</sup>.

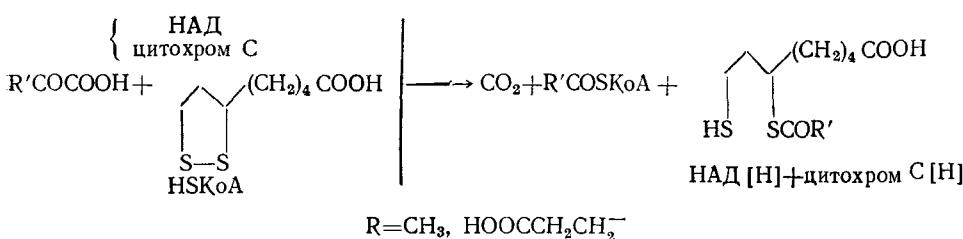
Сейчас известно более десяти различных ферментов, с доказанным участием ТДФ как кофермента<sup>106</sup>, среди них ферменты или ферментные системы, осуществляющие декарбоксилирование пировиноградной кислоты или других кетокислот, а также ферменты, катализирующие реакции обмена углеводов типа альдольного синтеза или альдольного разуплотнения. К ним относятся:

1.  $\alpha$ -Карбоксилаза, осуществляющая декарбоксилирование  $\alpha$ -кетокислот до соответствующих альдегидов и углекислоты:



2. Различные дегидрогеназы (оксидазы) пировиноградной кислоты и  $\alpha$ -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.



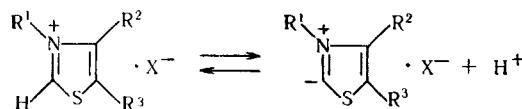
3. Группа ферментов, осуществляющих реакции, обратные альдольной конденсации, например, фосфокетолаза.

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

Несмотря на то, что факт участия ТДФ в процессах декарбоксилирования и других превращениях  $\alpha$ -кетокислот известен уже более четверти века<sup>107, 108</sup>, 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.

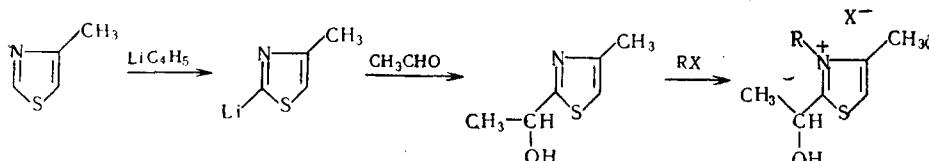
Бреслоу<sup>109</sup> предложил общий модельный механизм действия тиамина, связав два процесса: декарбоксилирование кетокислоты и ацилоиновую конденсацию. Как известно, роль цианида, который является катализатором ацилоиновой конденсации, сводится к образованию активного промежуточного карбаниона с альдегидом, который, в свою очередь, реагирует со второй молекулой альдегида, давая ацилоин.

Оказалось<sup>110</sup>, что производные тиазолия также способны давать промежуточные активные карбанионы, к которым легко присоединяется пировиноградная кислота. Изучение изотопного обменадейтерия с тиазолием показало, что существует тautомерное равновесие<sup>111</sup>:

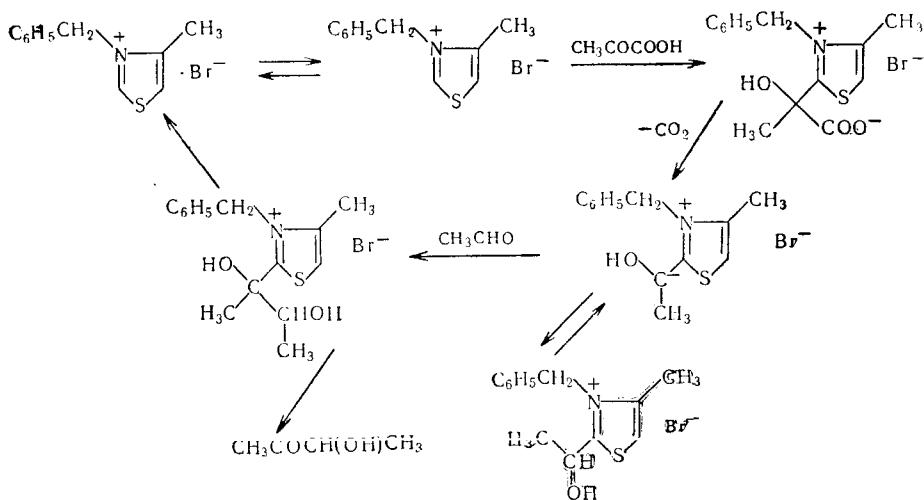


так как бромиды 3,4-диметилтиазолия и 3-бензил-4-метилтиазолия легко обменивают водород во втором положении тиазолия надейтерий в тяжелой воде. Карбанион легко присоединяет пировиноградную кислоту; механизм этой реакции аналогичен первой стадии ацилоиновой конденсации. Декарбоксилирование приводит к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

Такие производные были синтезированы<sup>112</sup> независимым путем через литийорганические соединения:

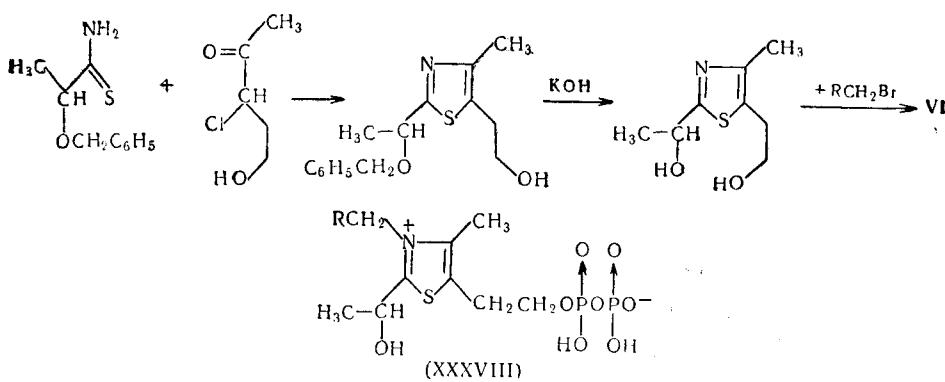


Таким образом получен бромистый 2-( $\alpha$ -оксиэтил)-3-бензил-4-метилтиазолий, который оказался энергичным катализатором синтеза ацетона из пировиноградной кислоты. Механизм этой реакции описан ниже следующей схемой:



Остаток бензила, как было выяснено, играет важную роль, так как бромистый 2-( $\alpha$ -оксиэтил)-3,4-диметилтиазолий обладает гораздо более слабыми катализитическими 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 пиридинового остатка тиамина, необходимого, очевидно, для создания электронного взаимодействия, облегчающего образование карбаниона. Большая эффективность тиамина, таким образом, объясняется большим электрофильным эффектом пиридинового остатка, чем у фенильного ядра.

«2-Оксиэтилтиамин», т. е. хлоргидрат хлористого [DL-3-(2-метил-4-амино-5-пиридинидил)-метил]-2-(1'-оксиэтил)-4-метил-5-(2'-оксиэтил)-тиазолия<sup>112</sup>, 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.

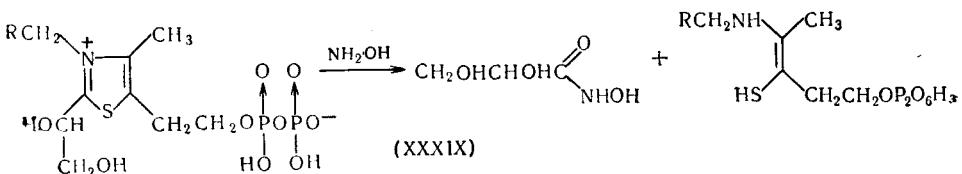


Затем из смеси ТДФ и ацетальдегида был выделен «2-( $\alpha$ -оксиэтил)-тиаминдинфосфат» (XXXVIII)<sup>5</sup>. Из меченого по обоим углеродным атомам ацетальдегида был получен меченный (XXXVIII), который и использовался далее в биохимических исследованиях. Оказалось, что это соединение выполняет роль «активного ацетальдегида», существование которого предполагалось заранее.

Было показано<sup>5</sup>, что меченный 2-( $\alpha$ -оксиэтил) — ТДФ является промежуточным продуктом при образовании ацетальдегида карбоксилазой пшеничных зародышей, при образовании ацетоина ферментными препаратами, полученными из *Aerobacter aerogenes*, при образовании ацетата, искусственной системой, имитирующей оксидазу пироноградной 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<sup>113</sup>, 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<sup>115</sup>.

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



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

\* \* \*

Познание механизма действия тиамина 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

- J. Kraut, H. J. Reed, *Acta cryst.*, **15**, 747 (1962).
- Ch. Kawasaki, T. Suhara, T. Horio, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 65 (1958); C. A., **52**, 11859 (1958).
- G. E. Bonvicino, D. J. Hennessy, *J. Org. chem.*, **24**, 451 (1959).
- S. Mizuhara, R. Handler, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 571 (1954).
- Л. О. Крампитец, И. Судзуки, Г. Грейл, Труды IV Симпозиума V ЖБК, М., Изд. АН СССР, 1961.
- T. Matsukawa, H. Hirano, T. Iwatsu, Sh. Yurugi, *J. Vitaminol. (Osaka)*, **3**, 213 (1957); C. A., **52**, 5423 (1958).
- G. E. Bonvicino, D. J. Hennessy, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 6325 (1957).
- T. Matsukawa, H. Hirano, T. Iwatsu, Sh. Yurugi, *J. Vitaminol. (Osaka)*, **3**, 218 (1957).
- H. Hirano, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 1387 (1958); C. A., **53**, 8145 (1959).
- T. Iwatsu, *J. Pharm. Soc. Japan*, **75**, 677 (1955); C. A., **50**, 3459 (1956).
- Sh. Ioshida, M. Kataoka, *Pharm. Bull.*, **5**, 320 (1957); C. A., **52**, 14588 (1958).
- Ch. Kawasaki, I. Tomita, *Vitamins (Kyoto)*, **16**, 324 (1959).
- Ch. Kawasaki, I. Tomita, T. Motoyama, *Vitamins*, **13**, 57 (1957); C. A., **54**, 4595 (1960).
- T. Motoyama, *Yakugaku Zasshi*, **79**, 115 (1959); C. A., **53**, 8225 (1959).
- 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. Mc Nelis, *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. Hennelly, *Intern. Ztschr. Vitaminforsch.*, **30**, 97 (1959).
42. J. Utsumi, K. Nagada, 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. Nagada, 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. Ko Ito, K. Inami, Япон. пат. 6991 (1958); C. A., **54**, 2380 (1960).
51. K. Kawahara, Y. Hoshi, 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 Хироши, 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. Leichsenring, 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. Ioshida, 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. Maruyama, 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. Mizoouchi, 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. Kominate, 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. Leichsenring, 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. Shimmura, 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. Toki, 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. Bickling, 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  
витаминный институт