



УДК 577.164.1.04

ДЕЙТЕРИРОВАНИЕ ТИАМИНА В УСЛОВИЯХ РЕАКЦИИ
С ОКСИЬЮ ЭТИЛЕНА

Поляченко В. М., Юркевич А. М.

Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва

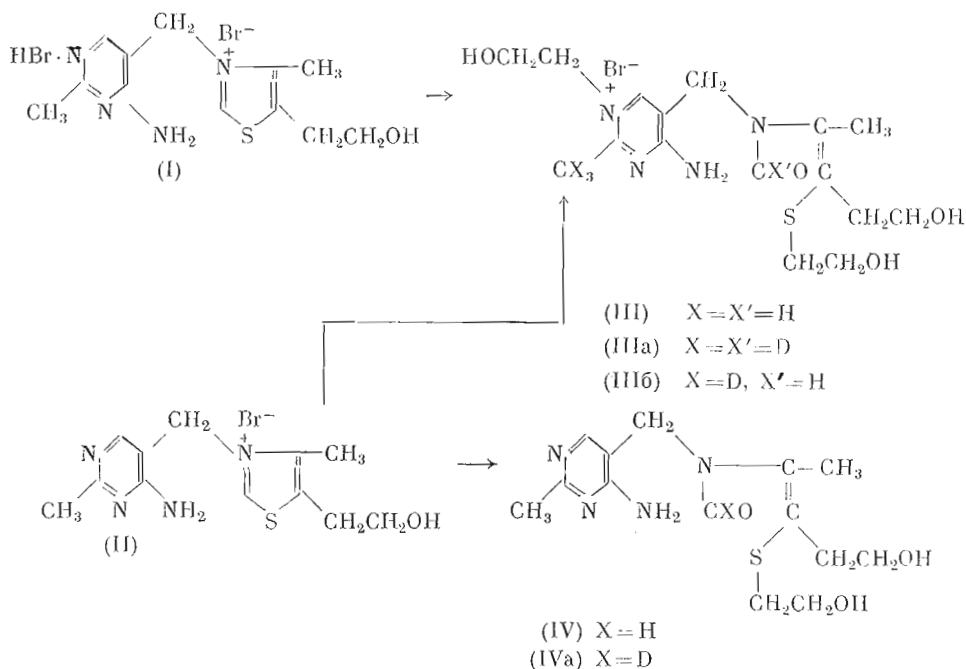
Взаимодействие тиаминна с окисью этилена приводит к образованию производных тиольной формы тиаминна — N-[2-метил-4-аминопиримидин-5-ил]метил]-N-[1-метил-2-(2-оксиэтилтио)-4-оксибутен-1-ил]формамида и N-[1-(2-оксиэтил)-2-метил-4-аминопиримидинийбромид-5-ил]метил-N-[1-метил-2-(2-оксиэтилтио)-4-оксибутен-1-ил]формамида, причем первое соединение, по-видимому, является промежуточным, а второе — конечным продуктом реакции. Методом ПМР показано, что эта реакция в среде D₂O сопровождается изотопным обменом протона во втором положении кольца тиазолия в исходном тиамине и дейтерированием 2-CH₃-группы пиримидинового ядра в конечном продукте реакции, который имеет структуру четвертичной соли пиримидиния. В исходном тиамине и в промежуточном производном тиольной формы тиаминна, пока они сохраняют первоначальную структуру пиримидинового ядра, 2-CH₃-группа не подвергается изотопному обмену с D₂O в условиях реакции с окисью этилена.

Хорошо известно, что в молекуле тиаминна протона при C(2)-атоме кольца тиазолия обладает способностью к изотопному обмену [1]. Что касается протонов при других углеродных атомах, то до недавнего времени таких свойств у них не обнаруживали (водородного обмена NH₂- и OH-групп мы касаться не будем). В 1971 г. появилось сообщение о дейтерировании 2-CH₃-группы пиримидинового ядра тиаминна [2, 3]. Изотопный обмен протекал в 6 н. растворе DCl в D₂O. Для доведения обмена до конца при комнатной температуре требовалось 7 сут. За кинетикой дейтерирования метильной группы следили по уменьшению интенсивности ее сигнала в спектре ПМР (τ_v 20 ч).

Ранее нами было изучено взаимодействие тиаминна с окисью этилена в водном растворе [4, 5]. Продолжая исследование, мы использовали D₂O в качестве среды для этой реакции.

Из бромгидрата тиаминбромида (I) с большим избытком окиси этилена при 20° С получен дейтерированный N-[1-(2-оксиэтил)-2-метил-4-аминопиримидинийбромид-5-ил]метил- N-[1-метил - 2-(2-оксиэтилтио)-4-оксибутен-1-ил]формамид (IIa). Из тиаминбромида (II) в этих условиях также преимущественно образуется дейтерированное производное (IIIa). С небольшим избытком окиси этилена при пониженной температуре из соединения (II) были получены два дейтерированных продукта реакции — формамид (IIIв) и N-[2-метил-4-аминопиримидин-5-ил]-метил]-N-[1-метил-2-(2-оксиэтилтио)-4-оксибутен - 1-ил]формамид (IVa),

которые были разделены кристаллизацией из этанола.



Рассмотрение спектров ПМР дейтерированных производных тиольной формы тиамина (IIIa) и (IVa) показало, что, как и следовало ожидать, оба соединения вместо группы $>\text{NCHO}$ содержат группу $>\text{NCDO}$ (исчезал синглет δ 8,03 или 7,96 м. д. соответственно). Близлежащие синглетные сигналы δ 8,05 м. д. в спектре (IIIa) и δ 7,86 м. д. в спектре (IVa) сохранялись. Они принадлежат протону пиримидинового цикла; этот протон не участвует в изотопном обмене с D_2O в выбранных нами условиях, как это будет однозначно показано ниже на примере пиримидинового фрагмента тиамина, не содержащего группы $>\text{NCHO}$.

Таким образом, спектры ПМР соединений (IIIa) и (IVa) позволили уточнить положение сигналов группы $>\text{NCHO}$ и протона пиримидинового цикла у соответствующих недеитерированных производных (III) и (IV) [4, 5].

В соединении (IIIa) дейтерирование затрагивало также 2- CH_3 -группу пиримидинового ядра (исчезал синглет при 2,68 м. д.). Та же самая метильная группа в производном (IVa) не испытывала водородно-дейтериевого обмена, интенсивность синглетного сигнала при 2,36 м. д. соответствовала 3 протонам.

В спектре ПМР недеитерированного производного тиольной формы тиамина (III) синглет 2- CH_3 -группы пиримидинового ядра перекрывается сигналами группы $-\text{CH}_2\text{S}-$ и метиленовой группы при двойной связи. У дейтерированной формы (IIIa) в этой области оставался триплет при 2,63 м. д. (J 7 Гц) (рис. 1).

Более четко нам удалось проследить дейтерирование структурного фрагмента тиамина — бромгидрата 2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидина (VI). Соединение (VI) получали гидролизом бромгидрата 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидина (V) в среде D_2O и, не выделяя, вводили в реакцию с окисью этилена. В результате был получен бромид 1-(2-оксиэтил)-2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидиния с дейтерированной метильной группой (VIIa). Для сравнения недеитерированная форма (VII) этого соединения была синтезирована в водной среде (H_2O). В спектре ПМР бромиды (VIIa) отсутствовал синглет 2- CH_3 -группы с δ 2,68 м. д.

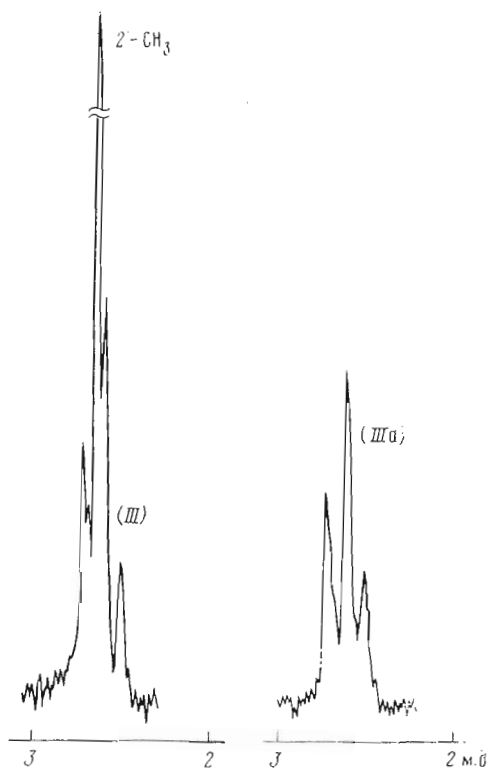
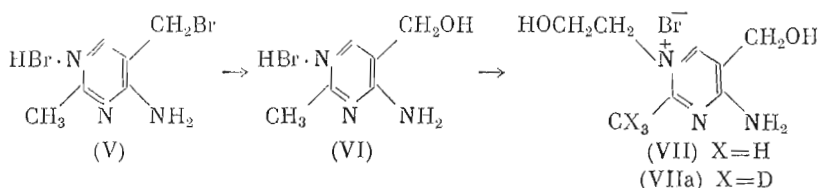


Рис. 1. Спектры ПМР N-[1-(2-оксиэтил)-2-метил-4-аминопиримидинийбромид-5-ил]метил-N-[1-метил-2-(2-оксиэтилпро)-4-оксипутен-1-ил]формамида (III) и его дейтерированной формы (IIIa) в области сигнала 2-CH₃-группы пиримидинового кольца

(наблюдался широкий остаточный сигнал интенсивностью $\sim 1/2$ протона). Что касается протона в шестом положении пиримидинового цикла, то он не обменивался на дейтерий и сигнал его (δ 8,07 с) полностью сохранял свою интенсивность.



Гидролиз бромгидрата (V) проводили при 20—25° С в течение 24 ч. В этих условиях ($\sim 1,5$ н. HBr) вклад кислотного катализа в дейтерирование 2-CH₃-группы должен быть незначительным. В упомянутом выше сообщении [2] было показано, что в 1 н. DCl в D₂O при комнатной температуре изотопный обмен протонов 2-CH₃-группы в пиримидиновом ядре тиамин протекает с $\tau_{1/2}$ 19 сут, причем за первые сутки обменивается не более 3% протонов.

Таким образом, в ходе реакции солей тиамин (I) и (II) или структурного фрагмента тиамин (VI) с окисью этилена в среде D₂O 2-CH₃-группа пиримидинового кольца подвергалась дейтерированию в том случае, если продукты реакции имели структуру четвертичных солей пиримидиния (IIIa) и (VIIa). В соединении (IVa), которое сохраняло первоначальную структуру пиримидинового ядра тиамин, 2-CH₃-группа оставалась не затронутой изотопным обменом с D₂O.

В ходе взаимодействия соединения (VI) с окисью этилена кислотность реакционного раствора быстро уменьшалась, среда становилась нейтральной и затем слабоосновной (рН 8—9). Аналогично возрастает рН реакционного раствора в случае бромистоводородных солей тиамин (I) и (II), достигая тех же значений.

Известно, что под влиянием основных реагентов четвертичные соли замещенных азотистых гетероциклов проявляют склонность к дейтерированию С-метильных групп, которое протекает полно и со значительной скоростью [6, 7]. В частности, соль 1,4,6-триметил-2-аминопиримидиния в условиях кислотного или основного катализа легко вступает в реакцию изотопного обмена с D₂O за счет 4- и 6-СН₃-групп при рН 8,5 (для 4-СН₃-группы τ_{1/2} 1700 мин и для 6-СН₃-группы — 116 мин) [8]. Авторы сообщения [8] впервые наблюдали изотопный обмен протонов С-метильных групп пиримидинов. В последующих работах была отмечена в условиях кислотного катализа относительная легкость дейтерирования 2-СН₃-группы по сравнению с метильными группами в четвертом и шестом положениях пиримидинового цикла [9, 10].

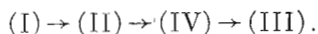
На основании приведенных выше литературных данных мы по окончании реакции соединения (I) с окисью этилена в D₂O к реакционному раствору, содержащему (IIIa), прибавляли недейтерированное соединение (III) и выдерживали дополнительное время. В результате последнее превращалось в дейтерированную форму (IIIб), у которой 2-СН₃-группа в пиримидиновом цикле была полностью дейтерирована, в то время как группа >NCHO оставалась не затронутой изотопным обменом. При молярном соотношении 1:1 амидов (III) и (IIIa) в спектре ПМР продукта реакции, представлявшего собой смесь (IIIa) и (IIIб), отсутствовал синглет (δ 2,68 м. д.) 2-СН₃-группы пиримидинового кольца, а интенсивность синглетного сигнала >NCHO (δ 8,03 м. д.) соответствовала ~1/2 протона.

По-видимому, в данном случае изотопный обмен соединения (III) с D₂O протекал под влиянием слабоосновной среды. Этот результат не исключает того, что в ходе реакции соединений (I), (II) или (VI) с окисью этилена также может происходить в той или иной степени дейтерирование 2-СН₃-группы в пиримидиновом цикле.

Полученные нами экспериментальные данные позволяют рассмотреть цепь последовательных превращений, которым подвергается тиамин в ходе реакции с окисью этилена.

Ранее было показано [4], что реакция бромгидрата (I) с окисью этилена в водном растворе при молярном соотношении реагентов 1:1 не затрагивает структуру тиамин и окись этилена присоединяет бромистый водород с образованием соединения (II). В опытах с избытком окиси этилена через 3 ч после начала реакции также образуется бромид (II) с выходом ~50%. Когда реакцию останавливали через 6 ч, то из реакционного раствора выделяли соединение (IV). Наконец, из последнего действием окиси этилена в присутствии бромистоводородной кислоты было получено соединение (III) [4].

Таким образом, цепь превращений тиамин в реакции с окисью этилена можно представить в следующем виде:



При этом соединение (II), превращаясь в (IV), одновременно может служить донором бромистого водорода для реакции (IV) → (III).

Дейтерирование группы >NCHO в формамидах (III) и (IV), сопровождающее реакцию в среде D₂O, обусловлено быстрым изотопным обменом протона при С(2)-атоме кольца тиазолия в соединении (II) [1, 11]. Непосредственного дейтерирования группы >NCHO мы не наблюдали. Превращение (IV) → (III) сопровождается дейтерированием

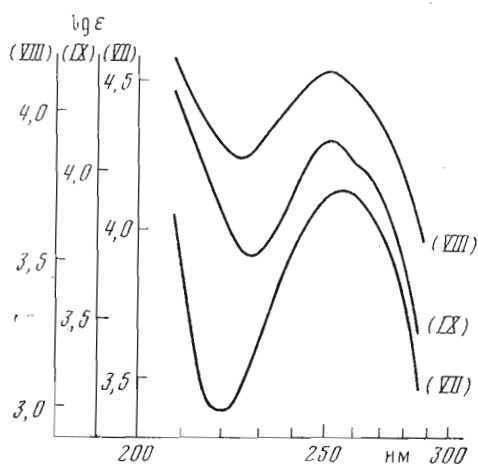


Рис. 2. УФ-спектры бромидов 1-(2-оксизтил)-2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидиния (VII), N(1)-иодметилата N-[(2-метил-4-аминопиримидин-5-ил)метил] - N - [1-метил-2-(2-оксизэтилтио) - 4-оксибутен-1-ил]формамида (VIII) и иодида 1,2-диметил-4-амино-5-этоксиметилпиримидиния, (IX) в воде

2-CH₃-группы пиримидинового ядра (см. выше). В соединениях (I), (II) и (IV) 2-CH₃-группа в условиях реакции не подвергалась водородно-деи-териевому обмену.

Описанная выше реакция тиамин с окисью этилена протекает в от-сутствии сильного основания в среде, близкой к нейтральной. В сильно-основной среде в присутствии едкого натра или едкого кали взаимодей-ствие тиамин с окисью этилена приводило к преимущественному обра-зованию соединения (IV), другие производные тиамин выделить не удалось.

Известно, что тиамин в щелочной среде образует с различными реаген-тами производные тиольной формы, у которых двойная углерод-углерод-ная связь в боковой цепи имеет N, S-цис-конфигурацию [11]. Образцы формамида (IV), полученные в отсутствие и в присутствии щелочи, были идентичны и в пробе смешения не давали депрессии температуры плавлени-я. По-видимому, реакция тиамин с окисью этилена в водном рас-творе в отсутствие щелочных агентов протекает таким образом, что при размыкании кольца тиазолия сохраняется N, S-цис-конфигурация двойной углерод-углеродной связи в боковой цепи соединения (IV) и соответствен-но соединения (III), поскольку последнее образуется из (IV) в результа-те реакции, не затрагивающей двойной связи.

Соединение (IV) было охарактеризовано нами также в виде N(1)-иодметилата (VIII), полученного реакцией с иодистым метилом в спирто-вом растворе.

Спектр НМР соединения (VIII) отвечал четвертичной соли пирими-диния. Наблюдался синглет группы $\text{CH}_3\text{N}^{\dagger}=\text{C}$ (δ 3,85 м. д.). При этом по сравнению с исходным сигнал 2-CH₃-группы пиримидинового цикла был заметно смещен в слабое поле (Δδ 0,29 м. д.), в то время как сигналы протонов ближайшего окружения атома серы (-CH₂S-, метильной и мети-леновой групп при двойной связи) сохраняли почти те же значения хи-мического сдвига, что и в спектре соединения (IV). Последнее наблюде-ние, особенно отсутствие смещения в слабое поле сигнала метиленовой группы, непосредственно связанной с атомом серы, исключает для соеди-нения (VIII) сульфониевую структуру, которая была приписана иодме-тилату S-метилпроизводного тиольной формы тиамин [12].

Близкое сходство УФ-спектров соединения (VIII) и его более просто-го пиримидинового фрагмента, иодида 1,2-диметил-4-амино-5-этоксиме-тилпиримидиния (IX), синтезированного ранее [4] (рис. 2), позволяет приписать соединению (VIII) структуру 1-метил-4-аминопиримидиния, однозначно определив при этом местоположение N-метильной группы в

пиримидиновом кольце. Структура иодметилата (VIII) согласуется с литературными данными об избирательном метилировании иодистым метилом N(1)-положения замещенных 4-аминопиримидинов [13, 14].

Аналогичное сравнение УФ-спектров галогенидов (VII) и (IX) позволило отнести соединение (VII) к ряду четвертичных солей 1-алкил-4-аминопиримидиния.

Чтобы исключить поглощение иодид-ионов, УФ-спектр иодметилата (VIII) снимали относительно раствора KI той же молярной концентрации. УФ-спектр соединения (IX) был снят после осаждения иодид-ионов нитратом серебра [4].

В ходе описанной выше реакции тиамин с окисью этилена электрофильное замещение (оксиэтилирование) у N(1)-атома пиримидинового цикла сообщает подвижность атомам водорода 2-CH₃-группы пиримидина, выражающуюся в интенсивном изотопном обмене с D₂O. При этом электрофильное замещение у N(1)-атома и дейтерирование метильной группы пиримидина протекают в мягких условиях, близких к тем, которые имеют место в биологических средах (водный раствор, комнатная температура, «физиологические» значения pH 7—9). Ранее в тех же условиях был обнаружен изотопный обмен водорода при C(2)-атоме тиазольевого кольца тиамин и на основании этого факта были развиты представления, согласно которым катализируемые тиаминдифосфатзависимыми ферментами биохимические реакции декарбоксилирования α -кетокислот, ацилоиноной конденсации и другие протекают с участием илльной формы тиаминдифосфата, непосредственно взаимодействующей с молекулой субстрата [1, 3, 15].

По-видимому, такие свойства пиримидинового кольца тиамин, как склонность N(1)-атома к электрофильному замещению и обусловленная последним подвижность атомов водорода метильной группы, могут каким-либо образом реализоваться в процессе биокатализа. В частности, в механизме связывания тиаминдифосфата с апоферментом в активном центре существенную роль играет N(1)-атом пиримидинового цикла, который, как полагают, образует координационную связь с ионом магния Mg²⁺, связанным в свою очередь с молекулой белка [15, 16]. В условиях катализа тиаминдифосфатзависимыми ферментами взаимодействие N(1)-атома с электрофильной частицей, очевидно, также должно сопровождаться изотопным обменом атомов водорода метильной группы пиримидинового кольца, подобно тому как это происходит в реакции тиамин с окисью этилена.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР регистрировали спектрометром Hitachi R-20A (60 МГц) (Япония), внутренний стандарт — *трет*-бутанол, растворитель D₂O, концентрация растворов 0,4 М. Химические сдвиги измеряли в шкале δ . УФ-спектры снимали на приборе Specord UV VIS (ГДР), растворитель — вода (бидистиллят), концентрация растворов 45—59 мкМ.

В работе были использованы бромгидрат тиаминбромид (фармакопейный) и бромгидрат 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидина (степень чистоты 82,5%).

Реакция бромгидрата тиаминбромид (I) с окисью этилена. А. К раствору 1 г (2,3 ммоль) соединения (I) в 2 мл D₂O, охлажденному до 5—10° С, прибавляли 1 мл (0,88 г, 0,02 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 24—48 ч при 20—25° С. Избыток окиси этилена удаляли в вакууме. Реакционный раствор разбавляли 8 мл воды (H₂O), нагревали с активированным углем, фильтровали и упаривали в вакууме. Остаток дважды кристаллизовали из 90%-ного этанола. Выход N-[1-(2-оксиэтил)-2-метил-4-аминопиримидиний]-бромид-5-ил]метил-N-[1-метил-2-(2-оксиэтилтио)-4-оксипутен-1-ил]формамида (IIIa) 0,49 г (45%), т. пл. 189—190° С.

В спектре ПМР отсутствовали сигналы 2-CH₃-группы пиримидинового кольца (2,68 с) и группы >NCHO (8,03 с), на месте синглета >NCHO наблюдался слабый остаточный сигнал [4].

Б. К раствору 1 г (2,3 ммоль) соединения (I) в 3 мл D₂O, охлажденному до 5—10° С, прибавляли 1 мл (0,88 г, 0,02 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 24 ч при 20—25° С. Реакционный раствор охлаждали до 5—10° С, прибавляли 1 г (2,1 ммоль) недейтерированного соединения (III) и выдерживали еще 24—48 ч при 20—25° С. Избыток окиси этилена удаляли в вакууме и далее выделяли смесь дейтерированных форм (IIIa) и (IIIб) (см. схему), как описано выше. Выход 1 г, т. пл. 187—188° С. В спектре ПМР отсутствовал сигнал 2-CH₃-группы пиримидинового цикла, интенсивность сигнала >NCHO составляла ~1/2 протона.

В. К раствору 10 г (23 ммоль) соединения (I) в 40 мл воды, охлажденному до 5—10° С, прибавляли 10 мл (8,8 г, 0,2 моль) жидкой окиси этилена и выдерживали при 20—25° С в течение 3 или 6 ч. Затем реакцию прерывали, удаляя окись этилена в вакууме.

После выдержки в течение 3 ч и удаления окиси этилена реакционную смесь охлаждали до -5—0° С. Осадок отделяли, промывали холодной водой и абс. этанолом. Выход соединения (II) 4,2 г (52%), т. пл. 165—167° С, не дает депрессии температуры плавления в пробе смешения с аутентичным образцом (II), полученным нейтрализацией водного раствора соединения (I) аммиаком [4].

В случае большей продолжительности реакции (6 ч) реакционный раствор после удаления окиси этилена обрабатывали активированным углем и упаривали в вакууме. Остаток растворяли при нагревании в 30 мл абс. этанола и охлаждали до -5—0° С, осадок отделяли, фильтрат упаривали в вакууме. Остаток дважды кристаллизовали из абс. этанола. Выход N-[2-метил-4-аминопиримидин-5-ил]метил-N-[1-метил-2-(2-оксипиримидин-4-оксибуген-1-ил)]формамида (IV) 1,2 г (16%), т. пл. 150—152° С, не дает депрессии температуры плавления в пробе смешения с ранее полученным образцом (IV) [4].

Реакция тиаминбромида (II) с окисью этилена. А. К суспензии 1,6 г (4,6 ммоль) соединения (II) в 4 мл D₂O, охлажденной до 5—10° С, прибавляли 1 мл (0,88 г, 0,02 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 24—48 ч при 20—25° С, время от времени перемешивая. Соединение (II) полностью растворялось. Удаляли в вакууме избыток окиси этилена и выделяли соединение (IIIa), как описано выше. Выход 1,41 г (65%), т. пл. 187—189° С. В спектре ПМР отсутствовали сигналы 2-CH₃-группы пиримидинового цикла (2,68с) и группы >NCHO (8,03с).

Б. К суспензии 2,4 г (6,9 ммоль) соединения (II) в 6 мл D₂O, охлажденной до 5—10° С, прибавляли 1 мл (0,88 г, 0,02 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 48 ч при той же температуре, затем прибавляли еще 0,3 мл (0,26 г, 0,006 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 24 ч при 5—10° С. Соединение (II) полностью растворялось. Избыток окиси этилена удаляли в вакууме. Реакционный раствор разбавляли 6 мл воды (H₂O), обрабатывали активированным углем и упаривали в вакууме. Остаток кристаллизовали из 10 мл 90%-ного этанола. Выход соединения (IIIa) 1,27 г (39%).

Маточный раствор после выделения (IIIa) упаривали, остаток растворяли при нагревании в смеси 6 мл абс. этанола и 9 мл этилацетата, горячий раствор фильтровали и упаривали. Остаток дважды кристаллизовали из абс. этанола. Выход соединения (IVa) 0,43 г (19%), т. пл. 149—151° С. В спектре ПМР отсутствует сигнал >NCHO (7,96с) [4].

Реакция бромгидрата 2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидина (VI) с окисью этилена. А. Растворяли 7,9 г (6,5 г 100%-ного вещества, 0,023 моль) бромгидрата 2-метил-4-амино-5-бромметилпиримидина (V) в 40 мл воды и оставляли на 24—48 ч при 20—25° С, затем при 5—10° С пропускали в раствор 8,8 г (0,2 моль) газообразной окиси этилена и

оставляли при той же температуре на 72 ч. Избыток окиси этилена удаляли в вакууме. Реакционный раствор обрабатывали активированным углем и упаривали в вакууме. Остаток 2–3 раза кристаллизовали из абс. этанола. Выход соединения (VII) 2,2 г (36%, считая на (V)), т. пл. 138–140° С, $\lambda_{\text{макс}}$ 255 нм ($\lg \epsilon$ 4,13). Найдено, %: С 36,5; Н 5,5; Вг 30,3; N 16,3. $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_2$. Вычислено, %: С 36,4; Н 5,3; Вг 30,3; N 15,9. Спектр ПМР: 2,68 с, 3 Н (2- CH_3); 3,95 т, J 5 Гц, $2\text{H}(-\text{OCH}_2\text{CH}_2\overset{\dagger}{\text{N}}=)$; 4,34 т, J 5 Гц, $2\text{H}(-\text{OCH}_2\text{CH}_2\overset{\dagger}{\text{N}}=)$; 4,57 с, 2 Н (5- CH_2OH); 8,07 с, 1 Н (6-Н пиримидинового кольца).

Б. Растворяли 1 г (0,83 г 100%-ного вещества, 0,003 моль) соединения (V) в 2 мл D_2O и оставляли на 24 ч при 20–25° С, затем охлаждали до 5–10° С, прибавляли 1,5 мл (1,3 г, 0,03 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 24 ч при 20–25° С. Избыток окиси этилена удаляли в вакууме. Реакционный раствор разбавляли 8 мл воды (H_2O), обрабатывали активированным углем и упаривали в вакууме. Остаток 2–3 раза кристаллизовали из абс. этанола. Выход дейтерированного соединения (VIIa) 0,28 г (36%, считая на (V)), т. пл. 137–139° С. В спектре ПМР отсутствовал сигнал 2- CH_3 -группы, наблюдался лишь широкий остаточный сигнал, интенсивность которого соответствовала $\sim 1/2$ протона.

Реакция тиамина с окисью этилена в присутствии сильного основания. К раствору 7,8 г (0,023 моль) хлоргидрата тиаминхлорида в 10 мл воды при температуре 0–10° С прибавляли раствор 2,6 г (0,046 моль) КОН в 5 мл воды, выдерживали 0,5 ч при 0° С, затем прибавляли 2 мл (1,76 г, 0,04 моль) жидкой окиси этилена и оставляли на 24 ч при той же температуре. Реакционный раствор упаривали в вакууме. Твердый остаток обрабатывали горячим абс. этанолом (30 и 15 мл). Осадок КСl отделяли, этанол отгоняли, остаток несколько раз кристаллизовали из абс. этанола. Выход N-[2-метил-4-аминопиримидин-5-ил]метил-N-[1-метил-2-(2-оксиэтилтио)-4-оксипутен-1-ил]формамида (IV) 2,2 г (29%), т. пл. 147–149° С, не дает депрессии температуры плавления в пробе смешения с образцом (IV), полученным реакцией тиаминбромид (II) с окисью этилена в нейтральной среде без участия щелочного агента [4].

N(1)-Иодметилат формамида (IV) (VIII). Смесь 1,5 г (4,6 ммоль) соединения (IV) и 0,6 мл (1,4 г, 9,2 ммоль) иодистого метила в 5 мл абс. этанола нагревали при слабом кипении в течение 2 ч, реакционный раствор охлаждали до –5–0° С, выпавший осадок отделяли. Выход соединения (VIII) 2 г (91%), т. пл. 160–162° С (из 80%-ного этанола), $\lambda_{\text{макс}}$ 252 нм ($\lg \epsilon$ 4,13). Найдено, %: С 38,5; Н 5,3; I 26,9; N 12,3; S 6,6. $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{IN}_4\text{O}_3\text{S}$. Вычислено, %: С 38,5; Н 5,4; I 27,1; N 12,0; S 6,9. Спектр ПМР: 1,90 с и 2,08 с, соотношение сигналов 1:9, в сумме 3Н (CH_3 при двойной связи в боковой цепи); 2,65 с (2- CH_3 пиримидинового кольца) и 2,53–2,78 (– CH_2S – и – CH_2 – при двойной связи в боковой цепи), в сумме 7Н; 3,33–3,85 м (две группы – CH_2O –) и 3,85 с ($\text{CH}_3\overset{\dagger}{\text{N}}=$) в пиримидиновом кольце), в сумме 7Н; 4,55 с (– CH_2N <); 8,05 с (>NCHO) и 8,10 с (6-Н пиримидинового кольца), в сумме 2Н.

ЛИТЕРАТУРА

1. Breslow R. (1957) J. Amer. Chem. Soc., 79, 1762–1763.
2. Hutchinson D. W. (1971) Biochemistry, 10, 542–544.
3. Островский Ю. М. (1975) в кн.: Активные центры и группировки в молекуле тиамина, с. 353, «Наука и техника», Минск.
4. Поляченко В. М., Козлов Э. И. (1976) Биоорган. химия, 2, 158–165.

5. Поляченко В. М., Козлов Э. И., Козлова Е. Д., Авакумов В. М. (1976) Авт. свид. СССР № 498299; (1976) Бюл. изобр., № 1, 83.
6. Абрамович Т. И., Грагеров И. П., Перекалин В. В. (1958) Докл. АН СССР, 121, 295-298.
7. Зацепина Н. Н., Тупицын И. Ф. (1974) Химия гетероцикл. соедин., 1587-1612.
8. Batterham T. J., Brown D. J., Paddon-Row M. N. (1967) J. Chem. Soc. (B), 171-173.
9. Dizabo P., Monier J. C., Pompon A. (1971) J. Labelled Compounds, 7, 399-408.
10. Pompon A. (1975) J. chim. phys. et phys.-chim. biol., 72, 505-508.
11. Asahi Y. (1968) Ann. Rep. Takeda Res. Lab., 27, 58-69.
12. Yamada S., Fujita T., Mizoguchi T. (1956) J. Pharm. Soc. Jap., 76, 616-620.
13. Curd F. H. S., Richardson D. N. (1955) J. Chem. Soc., 1850-1853.
14. Curd F. H. S., Richardson D. N. (1955) J. Chem. Soc., 1853-1858.
15. Хайлова Л. С., Юркевич А. М., Северин С. Е. (1973) в сб.: Коферменты (Яковлев В. А., ред.), с. 256-290, «Медицина», М.
16. Schellenberger A. (1967) Angew. Chem., 79, 1050-1061.

Поступила в редакцию
13.VI.1979

THIAMINE DEUTERATION IN ITS REACTION WITH ETHYLENE OXIDE

POLYACHENKO V. M., YURKEVICH A. M.

All-Union Vitamin Research Institute, Moscow

The reaction of thiamine with ethylene oxide results in two derivatives of the thiol form of thiamine, viz., N-[(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl]-N-[4-hydroxy-2-[(2-hydroxyethyl)thio]-1-methyl-1-butenyl]-formamide and 4-amino-1-(2-hydroxyethyl)-5-[[N-(4-hydroxy-2-[(2-hydroxyethyl)thio]-1-methyl-1-butenyl]-formamido)methyl]-2-methylpyrimidinium bromide, the former appearing to be an intermediate, the latter being the final product. When the reaction under consideration is carried out in D₂O, deuterium is incorporated into the 2 position of the thiazolium ring of thiamine and into the 2-methyl group of the pyrimidinium ring of the final product. As for the 2-methyl group of the pyrimidine ring of both thiamine and the intermediate, no deuteration has been observed. Evidence for hydrogen-deuterium exchange has been obtained by NMR spectroscopy.