



УДК 577.164.11

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ В МОЛЕКУЛЕ
ТИАМИНА НА ЭЛЕКТРОННУЮ СТРУКТУРУ ЕГО ТИАЗОЛОВОГО
КОМПОНЕНТА*Мосолов П. Н., Островский Ю. М., Шелленбергер А.**Отдел регуляции обмена веществ
Академии наук БССР, Гродно;**Университет им. Мартина Лютера, Галле (ГДР)*

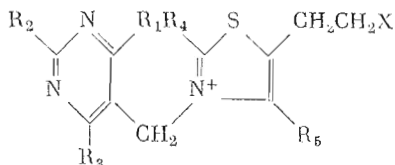
Полярнографическим методом показано, что тиолизация тиаминдифосфата и их производных, характеризующая эффективность электронного перекрывания п-связи 3-N — 2-C и σ — σ -связи на участке 2-C = 1-S в тиазоловом компоненте, зависит от общего распределения электронов во всей молекуле витамина. Различные заместители в пиримидиновом и тиазоловом ядре витамина аддитивно изменяют электронную структуру молекулы и, как показано ранее одним из авторов, соответственно коферментную активность дифосфорных эфиров этих производных. Введение метильной группы в положение 6 пиримидинового кольца тиаминдифосфата стабилизирует тиазоловый цикл, приближая скорость тиолизации данного производного к скорости тиолизации окситиамина, удаление метильной группы из положения 4 тиазола в этом же производном приводит к значительному восстановлению лабильности тиазолового цикла, приближая скорость его тиолизации к скорости тиолизации витамина.

Механизм каталитического действия тиаминдифосфата изучался нами в модельных и ферментных системах с различными аналогами тиаминдифосфата или кофермента [1—3].

Исследователи, производя те или иные замещения в молекуле тиаминдифосфата, основное внимание уделяли определению его активного центра или ограничивались рассмотрением роли стерических факторов в каталитическом процессе [4, 5]. Единичные попытки оценить природу внутримолекулярных сил, контролирующих или определяющих поведение молекулы катализатора, не выходили при этом за рамки предложений [6] или весьма противоречивых расчетов [7, 8]. Выявленные таким образом как активные центры второй углерод тиазолового [4] и аминогруппа пиримидинового фрагментов [9] тиаминдифосфата стали основой для формулирования современной теории тиаминового катализа. Однако обилие противоречий и спорных положений в указанных представлениях объясняет непрерывающиеся попытки многих авторов усовершенствовать, уточнить или даже пересмотреть устоявшиеся концепции [2, 10—12].

Изучение полярнографической активности тиаминдифосфата и его производных, проводившееся в последние годы в наших лабораториях [10, 13—16], дает возможность охарактеризовать некоторые особенности электронной структуры указанных соединений (см. схему) и показать, что в отдельных случаях решающую роль в каталитическом процессе играют не стерические

Сокращения: тиамп, тиаминмоно-, ди- и трифосфат — соответственно Th, ThP, ThPP, ThPPP.



- (I) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $X = \text{OH}$
 (II) $R_1 = X = \text{OH}$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{H}$
 (III) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $X = \text{OPO}_3\text{H}_2$
 (IV) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $X = \text{OP}(\text{O}, \text{OH})\text{OPO}_3\text{H}_2$
 (V) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{CH}_3$; $X = \text{OH}$
 (VI) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{CH}_3$; $X = \text{OH}$
 (VII) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_3 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $X = \text{OH}$
 (VIII) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$; $R_4 = R_5 = \text{H}$; $X = \text{OH}$
 (IX) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = \text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = R_5 = \text{H}$; $X = \text{OH}$
 (X) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{CHONCH}_3$; $X = \text{OH}$
 (XI) $R_1 = \text{NH}_2$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $X = \text{Cl}$
 (XII) $R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = R_5 = \text{CH}_3$; $X = \text{OH}$

факторы, а лишь изменения электронной плотности на отдельных участках молекулы кофермента. Наиболее интересными в последнем отношении оказались результаты полярографического изучения роли серы тиазолового компонента тиамин в каталитическом восстановлении водорода на катоде [13, 14], так как выяснилось [10], что эффективность функционирования витамина или его производных в модельных опытах при образовании ацетоина из пирувата прямо коррелирует с нуклеофильностью указанного атома. Были выбраны термодинамические характеристики, скорость и количество образования тиоловых форм, суммарно отражающих эффективность σ -электронного перекрывания на участке 2-C—4-S и прочность π -связи 3-N—2-C в тиазоловом компоненте витамина или его производных. Таким образом мы характеризовали свойства части молекулы катализатора, включающей в свой состав именно те атомы, которым по различным причинам отдельные авторы приписывали решающую функциональную роль [2, 4—6, 11, 17, 18].

Ранее мы показали [2], что изменение характера заместителей у 5-C тиазолового компонента витамина существенно влияет на процесс тиолиза соответствующих производных. Радикалы, содержащие σ -электроноакцепторные атомы и расположенные в непосредственной близости от атома серы, отчетливо уменьшают прочность 2-C—4-S-связи: скорость раскрытия тиазолового цикла увеличивается поэтому в ряду производных со следующими заместителями: 5-метил < 5-оксипропил < 5-этил < 5-оксиэтил < 5-оксиметил. Остатки фосфорной кислоты (особенно первый), обладая σ -электронодонорными свойствами, сдвигают потенциал электрохимического восстановления 3-N—2-C π -связи в более отрицательную область, делая тиазоловый цикл более прочным. Если проследить зависимость тиолиза тиаминфосфатов [19] и других производных тиамин от pH (рис. 1), то легко найти соответствующие значения pK тиолиза, которые удовлетворительно коррелируют с активностью тех же производных в ацилоиновой конденсации [10]. Общая закономерность, выявляющаяся при таких сравнениях, говорит о том, что каталитическая активность тиазолового цикла оказывается тем большей, чем менее прочен сам цикл, т. е. чем легче он образует тиоловые формы. Анализ зависимости константы реакции тиолиза от pH у различных производных витамина (рис. 2) позволяет выделить две стадии, определяющие скорость процесса (образование псевдооснований, а затем трициклических форм) [6] у тиамин и

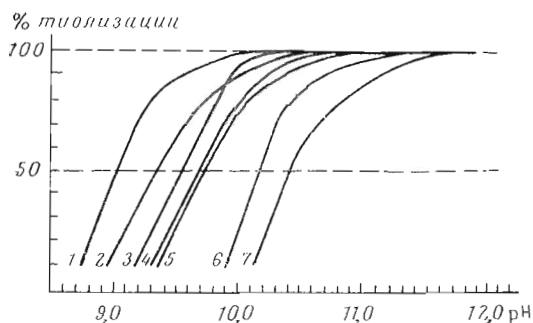


Рис. 1

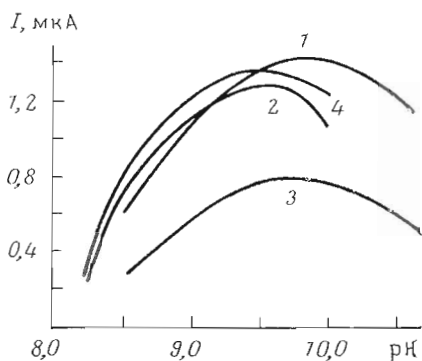


Рис. 3

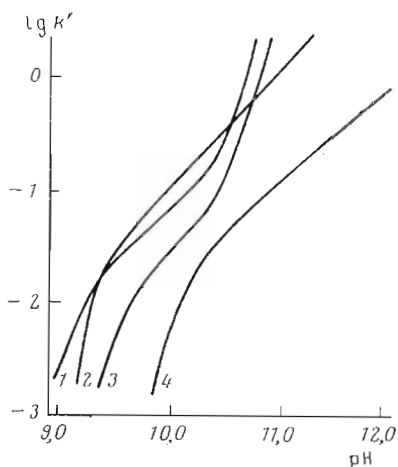


Рис. 2

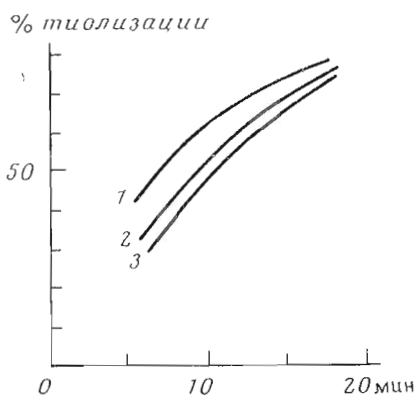


Рис. 4

Рис. 1. Тиолизация при различных рН: 1 — (X); 2 — (I); 3 — (XII); 4 — (III); 5 — (IV); 6 — (II); 7 — иодид 3,4-диметил-5-оксиэтилтиагозолия

Рис. 2. Зависимость констант скорости реакции тиолизации от рН: 1 — (I); 2 — (XII); 3 — (III); 4 — (II)

Рис. 3. Зависимость образования 3-ацетил-3-меркаптопропанола (анодная полярографическая волна с $E_{1/2} = -0,75$ В относительно насыщенного каломельного электрода) от рН при инкубации тиаминна и его производных в течение суток при 45° в атмосфере азота, 0,4 М боратный буфер: 1 — (III); 2 — (I); 3 — (IV); 4 — (X)

Рис. 4. Тиолизация 2'-метокситиамина (V) (1), тиаминна (I) (2), 2'-этилтиаминна (VI) (3) при рН 10 и 25°

ThPP, и только одну стадию (образование псевдооснований) у окситиамина (II) и 4'-дезаминотиаминна (XII). Получаемые характеристики следует, видимо, относить к этим стадиям.

Процесс тиолизации для большинства производных тиаминна, в частности ThPP, полностью обратим, если превращения происходят не в сильно щелочной среде и в отсутствие окислителя [2]. Взаимодействуя со щелочью, тиамин, ThP, ThPP и ThPPP образуют тиолы в условиях нашего эксперимента по реакции псевдопервого порядка. Это позволяет найти соответствующие константы (табл. 1) для производных витаминна и охарактеризовать их зависимость от температуры. Ускорение тиолизации ThPP по сравнению с ThP, более выраженное при нагревании, напоминает недавно замеченные сходные взаимоотношения у тех же производных витаминна по скорости дейтерообмена на 2-С тиазола при подщелачи-

Таблица 1

Зависимость констант скорости раскрытия тиазолового цикла у производных тиамина от температуры при pH 9,95 в боратном буфере
Константа общей реакции — k' , прямой — k_1 , обратной — k_{-1}

Соединение	Константа, мин ⁻¹	25°	30°	37°
Тиамин	k'	0,06183	0,12034	0,25
	k_1	0,054	0,1124	—
	k_{-1}	0,00783	0,00794	—
ThP	k'	0,0216	0,04266	0,08856
	k_1	0,01426	0,03413	0,08152
	k_{-1}	0,00734	0,00853	0,00112
ThPP	k'	0,02701	0,0473	0,136
	k_1	0,01924	0,0386	0,1254
	k_{-1}	0,00766	0,0087	0,0101

Таблица 2

Термодинамические характеристики реакции тиолизаии производных тиамина

Производное	$E_{\text{акт}}$, ккал/моль	ΔH , ккал/моль	ΔS , кал/моль/град	ΔG_{25}° , кал/моль
Тиамин	25,985	-25,494	-85,55	-943,65
ThP	30,888	-26,476	-88,84	-392,73
ThPP	24,678	-24,320	-81,61	-529,10
Окситиамин	69,778	+24,63	+80,637	+1731,86

вании растворов [20]. Из рассмотрения термодинамических параметров реакции тиолизаии производных тиамина (табл. 2) следует, что ThPP обладает меньшей энергией активации ($E_{\text{акт}}$) и большим положительным значением изменения энтропии (ΔS). Это свидетельствует о большей зависимости тиолизаии ThPP от температуры по сравнению с ThP. $E_{\text{акт}}$ реакции раскрытия тиазолового цикла позволяет приблизительно оценить энергию разрыва 2-C—1-S-связи (в данных условиях 25—35 ккал/моль). Незначительное изменение $E_{\text{акт}}$ раскрытия тиазолового цикла у тиамин, ThP, ThPP (1—5 ккал/моль) и существенное различие зависимости тиолообразования для тех же производных витамина от pH (рис. 1) или при образовании ацетона в модельных опытах [10] позволяют предположить, что на два последних процесса существенное влияние оказывают другие факторы, например внутримолекулярные водородные связи [2, 16]. В тех же условиях энергия активации разрыва 2-C—1-S-связи у окситиамин в 2 раза выше, чем у витамина. Не следует, однако, забывать, что речь идет о значении pH (9,95), при котором окситиамин еще не проявляет сколько-нибудь заметной активности в ускорении ацилоновой конденсации.

При повышенной температуре (37, 45, 55°) у тиамин, ThP, ThPP, ThPPP изменяется константа скорости реакции тиолизаии, что свидетельствует об изменении порядка реакции и возникновении новых продуктов. Появляющаяся при этом, как и при длительном выдерживании производных тиамин в щелочной среде при 45° (рис. 3), характерная полярографическая волна с потенциалом $E_{1/2} = 0,75$ В связана с разрушением тиола и образованием 3-ацетил-3-меркаптопропанола [21] и объективно характеризует процесс исчезновения тиоловых форм тиамин и его производных.

Раскрытие тиазолового цикла зависит не только от заместителей у 5-C-атома, как это было уже проанализировано выше (рис. 1, 2, 4, 5).

% тиолизации

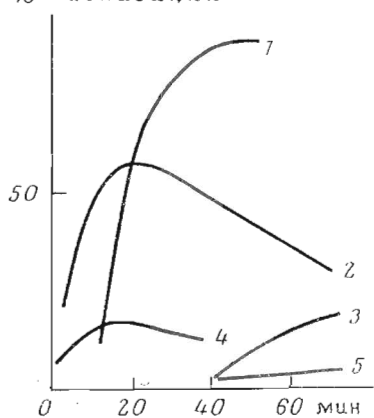


Рис. 5. Тиолизация окситиамина и производных с 6'-С- и 4-С-заместителями при pH 10 и 25°: 1 — (I); 2 — (VIII); 3 — (VII); 4 — (IX); 5 — (II)

% тиолизации

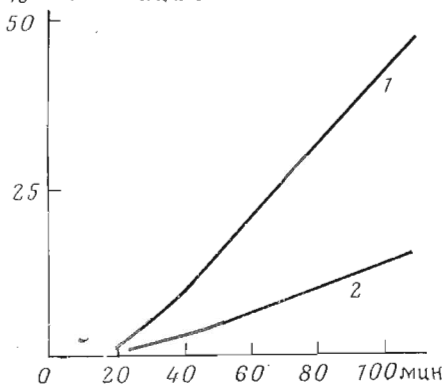


Рис. 6. Образование 3-формил-3-меркаптопропанола из 6'-метил-4-нор- (VII) (1) и 4-нор-тиамина (IX) (2) при pH 10 и 25° в 0,4 М боратном буфере

σ -Электронодонорные или электроноакцепторные заместители у 2-С пиримидина закономерно смещают реакцию в противоположные стороны по сравнению с тиолизацией тиамин (рис. 4). Существует, по-видимому, какое-то оптимальное соотношение индукционных или гиперконъюгационных воздействий на молекулу витамина, отклонение от которого может резко изменять условия функционирования тиазолового цикла. Так, если в тиамин дополнительно ввести метильную группу при 6-С пиримидина, то тиолизация полученного соединения (VII) (рис. 5, 3) тормозится в значительно большей степени, чем следовало ожидать от чисто индукционных σ - σ -воздействий [13]. В полном соответствии с принципом аддитивности однородных воздействий способность к тиолизации можно заметным образом восстановить, если от производного (VII) отнять метильную группу в тиазоловом фрагменте (6'-метил-4-нор-тиамин) (VIII) (рис. 5, 2). Освобождение атома 4-С от слабого донора σ -электронов вызывает, однако, новое свойство у тиазолового цикла: он начинает быстрее проходить стадию тиолизации (ср. восходящие участки кривых 2 и 3 на рис. 5) с появлением в среде продукта разрушения тиола — 3-формил-3-меркаптопропанола. Об этом свидетельствует перегиб соответствующей кривой для соединения (VIII) на рис. 5 и ход кривой на рис. 6, 1. Менее наглядны последствия удаления 4-метильной группы у тиамин (рис. 5, 4; 6, 2). Низкое расположение соответствующей кривой на рис. 5 отражает лишь незначительное присутствие (на период регистрации) тиоловых форм в растворе, так как после помещения этого производного тиамин в щелочную среду оно быстро переходит через тиоловые формы в продукты распада (рис. 6, 2). У 4-нор-тиамина (IX), таким образом, тиазоловый цикл и соответственно 2-С—1-S-связь намного лабильнее.

Создается впечатление, что отдельные участки в молекуле тиамин играют особую роль в его электронной структуре, оптимальной для осуществления каталитических функций. Такими участками несомненно являются атомы 4'-С и 6'-С в пиримидине и 4-С, 5-С в тиазоле. Нельзя исключить также роли стерических факторов [9], особенно важных для взаиморасположения и взаимодействия пиримидинового и тиазолового циклов друг с другом или для учета эффектов 5-оксиэтильного радикала [22].

Введение в положение 4'-С пиримидина вместо аминогруппы более сильного σ -электроноакцепторного заместителя кислорода, казалось бы,

должно ускорять тиолизацию нового производного. На деле же мы имеем обратный эффект (рис. 5, 1, 5). Возможны два объяснения полученному результату: 1) новый заместитель, отдавая неподеленную электронную пару в пиримидиновый цикл, увеличивает π -электронную плотность последнего больше, чем уменьшает эффективность σ -электронного перекрытия во всей молекуле соединения (II) за счет своего σ -электроакцепторного действия. В щелочной среде окситиамин присутствует уже не в лактамной, а в лактимной форме [19], которая за счет водородной связи с 2-С тиазолового фрагмента стабилизирует последний. Энергия водородной связи, правда, недостаточна, чтобы только ею объяснить резкое возрастание $E_{\text{акт}}$ у окситиамина по сравнению с тиаминном (табл. 2); 2) отсутствие заместителя по 4'-С (рис. 1, 3) или незначительная модификация 4'-NH₂-группы путем метилирования (N'-метилтиамин) мало сказываются на тиолизации новых производных, т. е. можно полагать, что стерические факторы в тиолизации играют меньшую роль, чем в каталитическом механизме.

Значение чисто электронных внутримолекулярных взаимодействий для состояния и реакционной активности тиазолового компонента витамина легко демонстрируется на других примерах. Если полностью устранить σ -донорные воздействия со стороны 5-оксиэтильного радикала (5-нор-тиамин), то полученное производное чрезвычайно быстро проходит стадию тиолизации в щелочной среде и образует тионовую форму. По-видимому, у обоих деметилированных производных насыщенность тиазолового цикла, вернее, эффективность σ - π -перекрытия в нем падает настолько, что молекула легко распадается на более устойчивые соединения. В отличие от тиамина и ThPP, для которых процесс разрушения тиоловой формы с образованием 3-ацетил-3-меркаптопропанола регистрируется лишь при нагревании до 45°, у 6'-метил-4-нор- (VIII) и 4-нор-тиамина (IX) распад наблюдается при 20°. Аналогичного эффекта можно добиться другим приемом: введем в тиазоловый компонент сильный электрофильного заместителя, например галоида. По существу тем самым окончательно доказывается определенная зависимость свойств тиазолового компонента тиамина от характера распределения в нем электронов. Регистрация образования тиоловых форм 5-(β -хлорэтил)тиамином (XI) в щелочной среде (рН 10,4; 25°) крайне затруднительна, так как это производное витамина проходит стадию тиолизации в доли секунды, образуя тиаминангидрид [23]. Промежуточное образование тиоловых форм в такой ситуации удается зарегистрировать лишь при пониженной температуре [24]. В полном соответствии с развиваемой нами точкой зрения труднее раскрывают тиазоловый цикл соединения, лишенные естественного для витамина σ -электроакцепторного [6] компонента — аминопиримидина (3,4-диметил-5-оксиэтил- (рис. 1, 7) и 3-бензил-4-метилтиазолий).

Все участки в молекуле витамина оказываются точками, от которых любые электронодонорные или акцепторные воздействия легко распространяются до наиболее важных в каталитическом отношении атомов (2-С, 3-N, 1-S) тиазолового компонента. Широко еще практикуемое обсуждение молекулярных механизмов каталитического действия ThPP лишь с формальным учетом стерических факторов и наличия или отсутствия какого-либо активного центра на молекуле [4—9, 17, 18] весьма односторонне. Это можно проиллюстрировать разбором результатов изучения протеинизации и коферментной активности некоторых аналогов ThPP, проведенного ранее [9]. Действительно, близкие по своим электронным параметрам окситиамин и 6'-метилтиамин (VII) (рис. 5, 3 и 5) не обладали каталитической активностью, но ее можно было восстановить до 22% по сравнению с ThPP, приблизив состояние тиазолового цикла по способности к тиолизации к таковому у кофермента путем удаления метильной группы (6'-метил-4-нор-ThPP). Еще ярче такая «нормализация» поведения той же пары молекул проявляется при сравнении степени их

взаимодействия с апопируватдекарбоксилазой: 6'-метил-ThPP связывается белком только на 44%, а 6'-метил-4-нор-ThPP — так же, как и кофермент. Ранее мы обращали внимание на своеобразную чувствительность тиамин к различного рода замещениям, которые вызывают изменение электронной структуры всей молекулы. Лабелизация тиазолового цикла в связи с этим не сопровождается усилением каталитической активности новых производных, так как, по-видимому, весьма важным условием при этом является синхронизация электронных сдвигов в субстрате и катализаторе. Любое их расхождение нарушает каталитический процесс. Поэтому у 4-нор-ThPP или 5-(β-хлорэтил)тиамина (XI) заметно падает коферментная и модельная каталитическая активность соответственно. Ситуация напоминает ту, которая уже отмечалась рядом авторов при сопоставлении дейтериеобмена при 2-С тиазола с каталитической эффективностью различных производных тиазолия, имидазолия и оксазолия [25, 26].

Экспериментальная часть

Тиамин, ThPP — коммерческие препараты. Окситиамин синтезирован по прописи [27], 2-(1-оксиэтил)-тиамин (X) — по методике работы [28]. Соединения (V) — (IX), 5-нор-тиамин и 4'-аминометилтиамин получены в лаборатории А. Шелленбергера. 4'-Дезаминотиамин (XII) любезно предоставлен д-ром Х. Киши (Осака, Япония), ThP получен из ВНИВИ (Москва), ThPPP предоставлен д-ром Т. Юса (Токио, Япония).

Полярограммы регистрировали на автоматическом приборе с самописцем EZ-7 (ЧССР) в условиях, описанных ранее [13, 14]. Обычные полярографические измерения вели в 0,4 М боратном буфере в присутствии 0,2 М KCl при pH 8—12. Измерения проводили при $25 \pm 0,01^\circ$ относительно насыщенного каломельного электрода. Кислород удаляли продуванием через раствор азота, после чего в ячейку объемом 5 мл с помощью специального шприца вносили навеску производного тиамин в объеме 0,05 мл (конечная концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ М) и после перемешивания производили измерения.

Концентрация тиоловых форм тиамин, окситиамин и тиаминфосфатов (в %), контролируемая по анодной полярографической волне при потенциалах $-0,4 \div -0,46$ В, определялась по калибровочным кривым, построенным при различных значениях pH. Тиоловые формы остальных производных витамина рассчитывали по калибровочной кривой для тиамин.

Для определения концентрации исходных нейтральных форм тиамин и его производных строили калибровочные графики по волне восстановления π-связи 3-N—2-С тиазолового компонента при более низких значениях pH, препятствующих раскрытию тиазолового цикла.

Образование 3-формил-3-меркаптопропанола (рис. 6) контролировали по анодной полярографической волне $E_{1/2} = -0,75$ В [21]. Концентрацию его определяли по калибровочной кривой. Кинетические и термодинамические расчеты проведены по известным методам. Дифференциальные УФ-спектры поглощения регистрировали на двухлучевом автоматическом спектрофотометре Specord UV-Vis (ГДР).

ЛИТЕРАТУРА

1. Островский Ю. М. (1971) Тиамин, с. 21—114, «Беларусь», Минск.
2. Островский Ю. М. (1974) в кн. Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты, с. 7—69, «Наука и техника», Минск.
3. Шелленбергер А. (1974) в сб. Структура и функция активных центров ферментов, с. 82, «Наука», М.
4. Breslow R. (1962) Ann. N. Y. Acad. Sci., 98, 445—451.
5. Krampitz L. O. (1969) Ann. Rev. Biochem., 38, 213—230.
6. Metzler D. E. (1960) in The Enzymes, A2, 295, Acad. Press, N. Y.

7. Пульман Б., Пульман А. (1965) Кваптовая биохимия, «Мир», М.
8. Collin R. L., Pullman B. (1964) Arch. Biochem. and Biophys., 108, 535—541.
9. Schellenberger A. (1967) Angew. Chem., 79, 1050—1060.
10. Островский Ю. М., Мосолов Н. Н., Степура И. И., Гривневич В. П., Садовник М. Н. (1974) в сб. Витамины, с. 140—146, Киев, вып. 7.
11. Pulsinelli F. (1970) Doctor Thesis, Univ. Pittsburgh.
12. Nafe G., Hübner G., Fischer G., Neff H., Schellenberger A. (1972) Acta biol. et med. Germ., 29, 581—594.
13. Островский Ю. М., Доста Г. А., Садовник М. Н., Мосолов Н. Н., Ясвинов А. А., Шелленбергер А., Хлюбнер Г., Кшиш Х. (1970) Биохимия, 35, 922—931.
14. Мосолов Н. Н., Степура И. И., Островский Ю. М. (1972) Биохимия, 37, 1265—1275.
15. Мосолов Н. Н. (1972) Материалы 2-го симпозиума по тиамину, с. 80—82, Гродно.
16. Островский Ю. М., Доста Г. А., Садовник М. Н. (1970) в сб. Витамины, с. 46—63, вып. 5, Киев.
17. Gunsalus I. C. (1954) Fed. Proc., 13, 715.
18. Mizuhara S., Handler P. (1954) J. Amer. Chem. Soc., 76, 571—577.
19. Мосолов Н. Н. (1974) в кн. Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты, с. 229—238, «Наука и техника», Минск.
20. Chauvet-Monges A. M., Rogeret C., Briand C., Crevat A. (1973) Biochim. et biophys. acta, 304, 748—752.
21. Asaki I. (1960) J. Pharm. Soc. Jap., 80, 1093—1096.
22. Risinger G. E., Dove M. F. (1965) Chem. and Ind., 12, 510—511.
23. Matsukava T., Yurugi S. (1965) in Rev. Japanese Literature on beri-beri and thiamine, pp. 104—134, Токио.
24. Островский Ю. М. (1975) Активные центры и группировки в молекуле тиамна, с. 234, «Наука и техника», Минск.
25. Hafferl W., Lundin R., Ingraham L. (1963) Biochemistry, 2, 1298—1303.
26. Olofson R. A., Thompson W. R., Michelman J. S. (1964) J. Amer. Chem. Soc., 86, 1865—1867.
27. Rydon H. M. (1951) Biochem. J., 48, 383.
28. Krampitz L. O., Suzuki I., Greull G. (1962) Ann. N. Y. Acad. Sci., 98, 466—478.

Поступила в редакцию
17.XI.1976

EFFECTS OF VARIOUS REPLACEMENTS IN THE THIAMINE MOLECULE ON THE ELECTRONIC STRUCTURE OF ITS THIAZOLE COMPONENT

MOSOLOV N. N., OSTROVSKY Yu. M., SCHELLENBERGER A.

*Metabolism Regulation Division,
Academy of Sciences of Byelorussian SSR, Grodno;
Martin Luter University, Halle, DDR*

By means of a polarographic method, thiolization of thiamine, thiamine diphosphate and their derivatives (which characterizes the efficacy of overlapping for the π -bond 3-N—2-C and σ — σ bond at 2-C—4-S site of thiazole component) was shown to be dependent on electron distribution in the whole vitamin molecule. Various substituents either in pyrimidine or thiazole moieties of the vitamin exert additive effects on electronic structure and, as it has been shown earlier, on coenzyme activity of respective diphosphates. Introduction of methyl group into 6-position of pyrimidine component of thiamine was found to result in stabilization of thiazole ring, whereupon the thiolization rate of this derivative was approaching that for hydroxythiamine. On the other hand, removal of methyl from 4-position of thiazole moiety in the same derivative considerably restores the lability of thiazole ring, so that its thiolization rate becomes close to that of the vitamin.