

Dosen		ermittelte i. E. pro g Substanz	Anzahl der Tiere
β -Carotin-di-epoxyd	5,0 γ	$1,2 \cdot 10^6$	8
	15,0 γ	$0,9 \cdot 10^6$	8
	25,0 γ	$1,1 \cdot 10^6$	8
Luteochrom	5,0 γ	$0,3 \cdot 10^6$	8
	15,0 γ	$0,3 \cdot 10^6$	8
	25,0 γ	$0,4 \cdot 10^6$	8

Da die Vitamin-A-Wirkung von 1 g β -Carotin $1,667 \cdot 10^6$ i. E. entspricht¹⁾, ist β -Carotin-di-epoxyd nur ca. 30% schwächer wirksam als jenes, während Luteochrom nur ca. 20% der Aktivität des β -Carotins besitzt.

Stockholm, Vitamin-Institut,
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

193. Über Cocarboxylase-Wirkung der Triphosphorsäureester eines niedrigeren und eines höheren Thiamin homologen

von P. Karrer, R. Schwyzer und K. Kostić.

(15. VII. 50.)

Nach *F. Schultz*²⁾ besitzt das N-(2'-Äthyl-4'-amino-pyrimidyl-5'-methyl)-4-methyl-5-oxyäthyl-thiazoliumchlorid (I), welches hier als Homothiaminchlorid bezeichnet werden soll, bei Versuchen an der Taube vorzügliche Vitamin-B₁-Wirkung, welche diejenige des Thiamins selbst noch etwas übertreffen soll. Im Gegensatz dazu erwies sich nach demselben Autor das N-(4'-Amino-pyrimidyl-5'-methyl)-4-methyl-5-oxyäthyl-thiazoliumchlorid (II), das wir als 2'-Desmethyl-thiaminchlorid bezeichnen wollen, im Taubentest ca. 22mal weniger wirksam als Thiaminchlorid. Es schienen uns daher hier zwei Substanzen vorzuliegen, welche sich zur Prüfung der Frage eignen, ob die Vitamin-B₁-Wirksamkeit im tierischen Organismus mit der Cocarboxylase-Wirkung solcher Verbindungen parallel geht oder nicht.

Daher haben wir aus den beiden genannten Thiazoliumsalzen nach der von uns früher für die Darstellung der Thiamintriphosphorsäure und Thiamin-diphosphorsäure angewendeten Methode³⁾ die

¹⁾ *Underhill & Coward*, *Biochem. J.* **33**, 589 (1939).

²⁾ *Z. physiol. Ch.* **265**, 113 (1940).

³⁾ *M. Viscontini, G. Bonetti & P. Karrer*, *Helv.* **32**, 1478 (1949). — *P. Karrer & M. Viscontini*, *Helv.* **29**, 711 (1946).

entsprechenden Triphosphorsäureester III bzw. IV hergestellt und deren Cocarboxylasewirkung mit jener des Thiamin-triphosphorsäureesters verglichen.

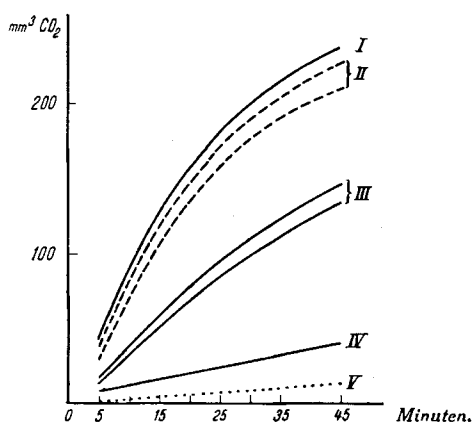
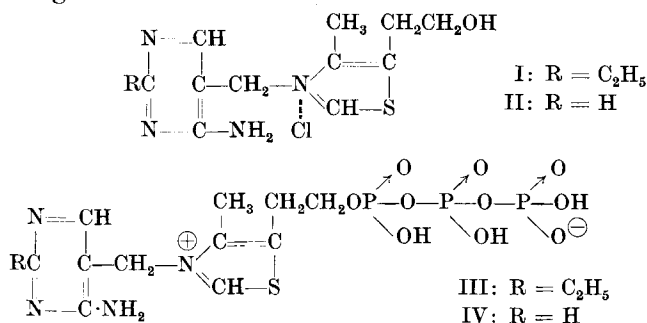


Fig. 1.

- Kurve I = 1000 γ Homothiamin-triphosphorsäure (III).
- „ II = 200 γ Thiamin-triphosphorsäure.
- „ III = 500 γ Homothiamin-triphosphorsäure (III).
- „ IV = 200 γ Homothiamin-triphosphorsäure (III).
- „ V = 1000 γ 2'-Desmethyl-thiamin-triphosphorsäure (VI).

Substrat: Apocarboxylase aus 0,12 g Trockenhefe,
Mn- und Mg-Salze,
1,2 mg brenztraubensaures Natrium auf
2 cm³ Lösung, pH = 6,2.

Temperatur: 28,5°.

Die Ergebnisse, welche in Fig. 1 graphisch dargestellt sind, lassen erkennen, dass der Triphosphorsäureester des Homothiamins ca. 4 mal weniger wirksam ist als derjenige des Thiamins, während der Triphosphorsäureester des 2'-Desmethylthiamins nur eine ganz unbedeutende Cocarboxylase-Wirkung aufweist.

Eine strenge Parallelität zwischen Thiaminwirkung im Tauben-test und Cocarboxylasewirkung bei der Kohlendioxydabspaltung aus Brenztraubensäure besteht somit bei diesen Verbindungen nicht und

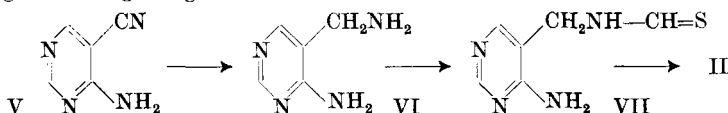
die Annahme wird daher berechtigt sein, dass die Wirkung des Thiamins und ähnlicher Verbindungen in der tierischen Zelle nicht eine reine Cocarboxylase-Wirkung sein kann.

Die vorliegende Abhandlung wurde teilweise mit Mitteln aus den Arbeitsbeschäftigungskrediten des Bundes durchgeführt, wofür wir bestens danken.

Experimenteller Teil.

Synthese des 2'-Desmethyl-thiaminchlorid-hydrochlorids und seines Triphosphorsäureesters.

Wir haben diese bereits bekannte aber nicht im Detail beschriebene Verbindung auf folgendem Wege dargestellt:



1. 4-Amino-5-cyan-pyrimidin (V): Darstellung nach *J. Baddiley, B. Lythgoe* und *A. R. Todd*¹⁾ aus Malonnitril und Formamidin. Reinigung durch Kristallisation aus viel Wasser.

2. 4-Amino-5-aminomethyl-pyrimidin (VI)²⁾: 42 g der Verbindung I wurden in 250 cm³ Methanol und 350 cm³ flüssigem Ammoniak bei 100° und 125 Atmosphären Anfangsdruck 6 Stunden lang mit 10 g *Raney-Nickel* und Wasserstoff gerührt. Hierauf wurde der Ansatz mit 250 cm³ Methanol verdünnt und so lange im Wasserbad zum Sieden erhitzt, bis das Ammoniak vertrieben war. Die Lösung wurde vom Nickel abfiltriert und im Vakuum zur Trockene verdampft. Den kristallinen Rückstand hat man in 600 cm³ absolutem Alkohol gelöst und aus der Lösung mit 75 cm³ konzentrierter Salzsäure das Dihydrochlorid als farblose Kristalle gefällt. Ausbeute 65 g. Zur Analyse wurde ein Teil der Verbindung in der 5fachen Menge 2-n. HCl gelöst und die Lösung mit der 6fachen Menge heissen Alkohols versetzt. Das reine Dihydrochlorid kristallisierte spontan in Form glänzender Schuppen. Die freie Base schmolz bei 134°.



3. 4-Amino-5-thioformamidomethyl-pyrimidin (VIII): 1 g 4-Amino-5-aminomethyl-pyrimidin-dihydrochlorid wurde in Wasser gelöst und mit der berechneten Menge Kaliumcarbonat die Base freigesetzt. Zur gekühlten Mischung haben wir einen Überschuss gelösten Natriumdithioformiats zugegeben. Das Endvolumen betrug 18 cm³. Nach einigen Stunden Stehens im Eisbade waren 780 mg der Verbindung VII auskristallisiert. Ausbeute 96% der Theorie. Smp. 174°, derbe Kristalle.

4. 2'-Desmethyl-thiaminchlorid-hydrochlorid (II): 2 g der Verbindung VII wurden in 4 cm³ Ameisensäure gelöst und mit 3 cm³ α -Chlor- γ -acetoxy-propyl-methylketon versetzt. Die Mischung, welche sich leicht erwärmt hatte, hat man 2 Stunden lang bei 100° gerührt. Wenn kein Geruch nach H₂S mehr wahrnehmbar ist (geringe Zersetzung von überschüssigem VII), ist die Reaktion beendet. Nun wurde die dunkelbraune Lösung mit 25 cm³ 2-n. HCl verdünnt und wiederholt mit Chloroform extrahiert. Die wässrige Phase haben wir hierauf (unter Zusatz von Tierkohle) zwecks Verseifung der Acetoxygruppe 1 Stunde bei 40–50° gerührt, filtriert und im Vakuum auf wenige cm³ eingengt, worauf sich eine schwerlösliche Verunreinigung abfiltrieren liess (Waschen mit 21-proz. Salzsäure). Das Filtrat wurde mit dem 4-fachen Volumen Alkohol versetzt, worauf 1,52 g ziemlich reines Desmethyl-thiaminchlorid-hydrochlorid (II) auskristallisierten. Umkristallisation aus einer Mischung von Alkohol und 2-n. Salzsäure. Feine, stäbchenförmige Kristalle, welche sich bei 170° bräunen und sich oberhalb 250° zersetzen. Thiochromtest stark positiv.



¹⁾ Soc. 1943, 386.

²⁾ Reduktionsmethode vgl. *W. Huber*, Am. Soc. 66, 876 (1944).

5. 2'-Desmethyl-thiamin-triphosphorsäure: Darstellung analog den Angaben von *Viscontini, Bonetti & Karrer*¹⁾. Das mit Aceton aus der wässrigen Lösung des Reaktionsgemisches ausgefällte Öl muss mindestens 6 mal mit Eiswasser-Aceton umgefällt werden, bis das entstehende Produkt frei von Phosphationen ist. Das Öl, welches schliesslich erhalten wird, wird beim Anreiben mit wenig absolutem Alkohol (ohne Aceton) sofort fest. Das farblose Pulver ist nicht sehr hygroskopisch. Ausbeute 0,6 g aus 0,5 g II.

$C_{11}H_{17}O_{10}N_4SP_3$, H_2O (508) Ber. Gesamt-P 18,4 N 11,05%
Gef. Gesamt-P 18,8 „ 9,9 %

Verhältnis von leicht abspaltbarem Phosphor zu Gesamtphosphor:
Ber. 0,66 Gef. 0,65.

Synthese des Homothiaminchlorid-hydrochlorids und seines Triphosphorsäureesters.

Diese Verbindungen wurden vollkommen analog dargestellt wie das vorbeschriebene 2'-Desmethyl-thiaminchlorid-hydrochlorid und sein Triphosphorsäureester. Über die einzelnen Zwischenprodukte der Synthese ist noch folgendes zu sagen.

1. 2-Äthyl-4-amino-5-cyan-pyrimidin: Dessen Darstellung erfolgte nach *W. Huber & H. A. Hölscher*²⁾ aus Äthoxymethylen-malonsäure-dinitril und Propionamin. Die Reinigung der Verbindung wurde durch Kristallisation aus Methanol vorgenommen.

2. 2-Äthyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin³⁾: Die Verbindung wurde wie das niedere Homologe VI bereitet, zur Kristallisation in absolutem Alkohol gelöst und in diesen gasförmiger Chlorwasserstoff eingeleitet. Durch Zusatz von Äther kann die kristalline Ausscheidung noch vervollständigt werden.

3. 2-Äthyl-4-amino-5-thioformamidomethyl-pyrimidin: Dargestellt wie Verbindung VII. Die Ausbeute betrug 96% der Theorie. Der Smp. der Verbindung lag bei 145°.

4. Homothiaminchlorid-hydrochlorid (I): Die Verbindung erhielt man aus der vorgenannten Substanz in analoger Weise wie das 2'-Desmethyl-thiaminchlorid-hydrochlorid. Die Umkristallisation der Substanz wurde aus Alkohol vorgenommen. Ihr Smp. lag bei 243—244°, unter Zersetzung.

$C_{13}H_{19}ON_4ClS$, HCl (351) Ber. C 44,44 H 5,70 N 15,85%
Gef. „ 44,29 „ 5,91 „ 15,87%

Zusammenfassung.

Aus N-(2'-Äthyl-4'-amino-pyrimidyl-5'-methyl)-4-methyl-5-oxyäthyl-thiazoliumchlorid I (Homothiaminchlorid) sowie aus N-(4'-Amino-pyrimidyl-5'-methyl)-4-methyl-5-oxyäthyl-thiazoliumchlorid (II) (2'-Desmethyl-thiaminchlorid) wurden die entsprechenden Triphosphorsäureester III bzw. IV dargestellt und auf Cocarboxylase-Wirkung geprüft. Der Triphosphorsäureester des Homothiaminchlorids war ungefähr 4mal weniger wirksam als Cocarboxylase bzw. Thiamin-triphosphorsäureester, der Triphosphorsäureester des 2'-Desmethyl-thiaminchlorids zeigte nur unbedeutende Cocarboxylase-Wirksamkeit. Die Cocarboxylase-Aktivität der genannten drei Verbindungen scheint der Wirksamkeit der drei Phosphorsäure-freien Grundkörper als Vitamin-B₁-Faktoren im Tauben-Test nicht genau parallel zu gehen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ *Helv.* **32**, 1478 (1949).

²⁾ *Ber.* **71**, 98 (1938).

³⁾ Vgl. *W. Huber*, *Am. Soc.* **66**, 876 (1944).