

Thiamine 誘導體의 製造條件에 關한 研究

朴洪球 · 趙漢玉 · 趙成桓

世宗 大學 食品工學科

(1980년 3월 20일 수리)

Studies on the Relationship of the Preparation of Thiamine Derivatives

Hong-Koo Park, Han-Ok Cho and Sung-Hwan Cho

King Sejong University

Abstract

Thiamine derivatives of thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide (TTFD) and thiamine propyl disulfide (TPD) were obtained in a good yield and purity by use of thiothiamine (SB_1) and also described in details for the preparing sodium tetrahydrofurfuryl thiosulphate (Bunte's salt) with and without KI. The optimum reaction conditions for the preparation of TTFD was set in which the Box-Wilson plan was applied. The reaction conditions are as follows;

1. pH value of aqueous solution of thiol type of $B_1 \cdot HCl$; 12.09
2. Quantity of Bunte's salt (to $B_1 \cdot HCl$ 20G); 35.01g
3. Reaction temperature; 15.59°C

Studies on ultraviolet absorption were made at various pH and showed that the absorption maxima are shifted with change of pH. The absorption maxima are at 244~246nm, 234~235nm in TTFD, and 245~246nm, 233~235nm in TPD. The structure was proved by the infrared spectral evidence. Quantitative determination was studied.

緒 論

松川等¹⁾에 의하여 allithiamine 이 發見된 以來 thiamine 誘導體의 合成에 關한 研究는 현재까지 활발히 進行되어 왔다. 著者는 數種의 allithiamine 同族體를 合成하여 化學構造와 臭氣와의 相關性에 對하여 究明하는 同時에 Thiamine 誘導體의 各種 溶媒에 對한 溶解度를 測定하여 溶解度만큼 더 回收할수있는 要因을 이미 보고한바 있다²⁾. 本報에서는 thiamine 誘導體의

研究의 一環으로서 尙今까지 市中에서 實用되고 있는 thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide^{3,4)} (TTFD)와 thiamine propyl disulfide⁵⁾ (TPD)의 詳細한 製造條件등을 捕着하기위하여 TTFD 製造中間體인 sodium tetrahydrofurfuryl thiosulphate (Bunte's salt) 製造時 촉매로 사용하는 KI의 添加有無를 併行實驗하였고, thiothiamine 에서 直接 thiamine 誘導體를 製造實驗하여 得量과 純度等을 $B_1 \cdot HCl$ 에서 製造한것과 比較하였으며 더구나 TTFD 製造實驗을 多因子要因試驗法의 하나인 Box-wilson plan⁶⁻⁸⁾에 依하여 最適反應

條件을 찾는 同時에 理化學的 性狀인 UV Spectra, IR Spectra, 定量法등 몇가지 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

實驗方法

I. KI 有無에 따른 Sodium tetrahydrofurfuryl thiosulphate 合成⁴⁾

Tetrahydrofurfuryl bromide 0.1mol 을 約 2 倍量의 alcohol 에 溶解하고 이것에 sodium thiosulfate 0.1mol 을 1.5 倍의 H₂O 에 溶解한 溶液에 加하고 KI 0.03mol 을 添加하여 水浴上에서 攪拌하면서 加熱환류, 混合物이 均一이 된다음 14시간 反應시킨다. 反應이 完了되면 減壓농축건고하여 結晶을 濾取한다. 한편 다만 KI 를 加하지 않고 上記와 同一한 操作으로 併行實驗을 하였다 Sodium tetrahydrofurfuryl thiosulphate 의 定量

60.5% (KI 使用時)

59.7% (KI 不在時)

II. Thiothiamine 으로부터 thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide 의 合成

3-[2'-Methyl-4'-aminopyrimidyl-(5')]-methyl-4-methyl-5β-hydroxy ethyl thiothiazolone(2) (thiothiamine)⁵⁾ 50g (0.168mol)에 H₂O 200ml C-H₂SO₄ 2g 을 加하여 混和시키고 攪拌하면서 30% H₂O₂ 水 54g 을 徐徐히 滴下하면 發熱하면서 反應하여 thiothiamine 은 溶解한다⁶⁾. 反應이 完了되면 脫色시켜 液을 농축하여 이 농축액을 定量한다음 萬木氏等⁴⁾의 報告에 따라 實施하여 얻은 結晶을 초산에 침로부터 再結晶하여 m. p. 132~135°C(decomposition)의 無色 柱狀結晶 38.5g (66.2%)을 얻었다. 이와같은 實驗을 3回 施行한 平均收率은 66~67%.

Anal. Calcd. for C₁₇H₂₆O₃N₄S₂; N, 15.30

Found " " ; N, 15.07

III. Box-wilson 計劃에 따른 Thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide 의 合成 및 製造要因

本實驗에 있어서 TTFD 의 製造要因으로 採擇한것은 (1) B₁·HCl 의 濃도(m) (2) 反應溫度(t) (3) Bunte's salt 의 量(l) (4) 攪拌速度(a) (5) 反應液의 pH(h)의 5 種이며 各要因을 다시 2

Levels 으로 나누어 實驗을 실시하였다. 이 境遇에 있어서 條件의 모든 組合은 2⁵回를 要하다 實驗回數를 減少시키고 同等 效果를 얻는 方法으로 直交配列表를 利用하여 製造실험하였다. 直交配列表에 따라서 Level 各 組合을 表示하면 Table 1, 2 와 같다. TTFD 合成은 萬木氏等⁴⁾의 報告에 따라 實施하였다. 攪拌速度는 universal type 인 stirrer 로 조절하였고 pH 는 Beckman pH meter 로 測定하였다.

Table 1. Factors and levels

Factor	Level 1	Level 2	Symbol	Unit
Concentration of thiamine. HCl	40	50	m	%
Reaction temperature	15	25	t	°C
Quantity of Bunte's salt	34	35	l	g
Agitation velocity	40	80	a	rpm
pH	9.5	10.5	h	pH

Table 2. Orthogonal array table of experimental factors

Exp. no	m		t	l	a	h
	B ₁ ·HCl (Gm)	H ₂ O (Gm)	(°C)	(g)	(rpm)	(pH)
1	20	30	15	34	40	10.5
2	20	20	15	35	40	9.5
3	20	30	25	35	40	10.5
4	20	20	25	34	40	9.5
5	20	30	15	34	80	9.5
6	20	20	15	35	80	10.5
7	20	30	25	35	80	9.5
8	20	20	25	34	80	10.5

IV. 紫外吸收 Spectrum 測定

試料의 1×10⁻⁴mol/l 의 水溶液을 만들고 HCl 산성용액(pH3.4) 및 NaOH 알카리성용액(pH10.9)으로하여 紫外吸收 spectrum 을 測定하였다.

V. 赤外吸收 Spectrum 測定

Beckman IR-Spectrophotometer 를 使用했으며 實驗方法으로 Double beam operation 에 依한 KBr disc method 를 썼으며 reference side 에 KBr disc 를 두고 實驗하였다.

V. 定量法¹⁰⁾

一般的으로 thiamine 誘導體의 定量法으로는 非水滴定法, thiochrome 螢光法, BrCN 反應에 依한 吸光度測定法等을 들수있으나 著者が 實施한 方法은 比較的 簡便하고 再現성이 좋은 Acid dye method 에 따라 實施하였다. 즉 TTFD 2×10^{-6} mol 용액 10ml 을 正確하게 取하여 50ml 분액여부에 넣고 여기에 CHCl_3 -dye 溶液 10ml(Bromothymol blue 4×10^{-4} M 을 CHCl_3 에 溶解한 液)을 加하고 1分間 진탕하고 원심분리(2500rpm) 하여 투명한 CHCl_3 層을 取하여 buffer 용액을 對照로하여 波長 420nm 에서 Beckman DU Spectrophotometer 로 吸光도를 測定하였다.

結果 및 考察

I. Sodium tetrahydrofurfuryl thiosulphate 製造時 KI 添加의 影響

Bunte's salt 製造時 촉매로 加하는 KI 의 添加 有無에 依한 影響을 검토하기 위하여 時間에 따른 殘存 hypo 量을 測定한 結果 Table 3, Fig. 1. 에서 나타낸 바와같이 Bunte's salt 製造에는 別다른 影響을 주지 않음을 알수있다. 따라서 Bunte's salt 製造時 KI 를 添加하지 않고 反應시키는것이 經濟面에서 有益한 것으로 思料된다.

II. Thiothiamine 으로부터 TTFD 의 製造

Thiamine·HCl 로부터 合成하는 方法보다 直接

Table 3. Effect of KI on the Preparation of Bunte's salt.

Time(hrs)	Remaining Hypo(mg)		Remarks
	Without KI	With KI	
0	250.00	250.00	Complee miscibility "
2	81.60	150.80	
3	63.20	119.80	
4	53.47	100.40	
5	44.45	82.87	
7	38.94	69.07	
9	27.13	60.26	
11	25.12	46.46	
13	22.61	46.08	
15	21.34	46.40	
17	18.84	43.95	

thiothiamine 으로부터 thiamine·HCl 을 回收하지 않고 thiamine· H_2SO_4 으로부터 TTFD 를 合成하면 製造工程을 短縮시킬수있으며 純度, yield 面에도 손색이 없었다.

III. Box-wilson 計劃에 依한 製造條件의 評價

本實驗에 있어서 反應成積體의 評價는 TTFD 의 得量(y)으로 實施하였으며 그 結果는 Table 4과 같다.

實驗計劃에 依하여 5要因과 TTFD 得量이 一次方程式의 함수관계를 만족시키는 것으로 假定하면 다음식이 成立된다. 즉

$$y = b_0 + b_1m + b_2t + b_3l + b_4a + b_5h \dots \dots \dots (1)$$

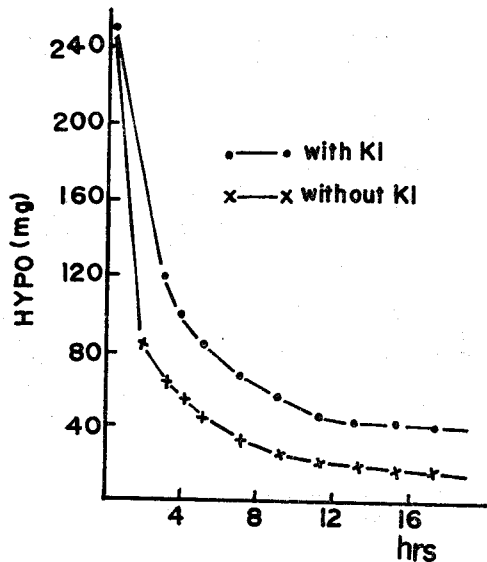


Fig. 1. Plots of remaining Hypo vs. time by KI.

Table 4. Factorial effects of preliminary test

Exp. No	M	T	L	A	H	Yield(%)
1	-1	-1	-1	-1	+1	64
2	+1	-1	+1	-1	-1	56.2
3	-1	+1	+1	-1	+1	62.5
4	+1	+1	-1	-1	-1	52.7
5	+1	-1	+1	+1	+1	66
6	-1	+1	+1	+1	-1	58.3
7	-1	+1	+1	+1	-1	51.5
8	+1	+1	-1	+1	+1	67.5

實驗結果에 따라 $b_0, b_1, b_2, b_3, b_4, b_5$ 를 구하는 것이 목적이며 實驗條件으로서는 各要因의 Levels의 組合에 依하여 실험하였고 선정된 數值를 變換하여 다음과같이 簡略化하였다. 變數轉換의 方針으로는 첫째 原點을 Level의 中央에 두고 둘째 各 Level과 原點間의 距離는 그 Level 間격의 $\frac{1}{2}$ 을 尺度로 계산하였다. 이 方針에 따라 變換式은 다음과같이 쓸수있다.

$$M = \frac{m-45}{5} \quad T = \frac{t-20}{5} \quad L = \frac{l-34.5}{0.5}$$

$$A = \frac{a-60}{20} \quad H = \frac{h-10}{0.5}$$

Table 6. Designed factors for maximum slope test

Factor	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>l</i>	<i>a</i>	<i>h</i>
Zero point	45	20	34.5	60	10
Class	5	5	0.5	20	0.5
Coefficient(<i>b'</i>)	0.9375	-1.2875	2.7013	0.9875	3.2375
Class× <i>b'</i>	4.6875	-6.4375	1.35065	19.75	1.61875
Unit	1	-1.307	0.2808	4.213	0.345

과같은 (2)식을 얻을수있다.

$$y = b'_0 + b'_1 M + b'_2 T + b'_3 L + b'_4 A + b'_5 H \dots (2)$$

Table 5의 正規方程式에 依하여 聯立으로 풀어 (3)식을 얻었다.

$$y = 59.5875 + 0.9375M - 1.2875T + 2.7013L + 0.9875A + 3.2375H \dots (3)$$

여기서 TTFD 得量에 크게 영향을 미치는 要因은 反應液의 pH, Bunte's salt의 量, 反應溫度의 順이고 thiamine·HCl 농도, 및 교반속도는 無視할수있는 數值이다. 이 중에서 그 絕對值가 커짐에 따라 TTFD 得量이 커지는 要因은 反應液의 pH, Bunte's salt의 量, 교반속도이고, 反對로 反應溫度는 그 절대치가 적어질수록 TTFD의 Yield가 增大함을 알수있다. 1次實驗結果로 最適條件의 方向은 大略 定하였으므로 (3)식의 係數를 利用한 2次經路實驗은 Table 6, Table 7과 같다.

이 실험은 原點으로부터 最適條件으로 가는것은 明確하나 여기에서 條件의 推定이 곤란하여

Table 5. Normal equations

	<i>I</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>l</i>	<i>a</i>	<i>h</i>	<i>y</i>
	b'_0	b'_1	b'_2	b'_3	b'_4	b'_5	
<i>I</i>	8	0	0	0	0	0	476.7
<i>m</i>	0	8	0	0	0	0	7.5
<i>t</i>	0	0	8	0	0	0	-10.3
<i>l</i>	0	0	0	8	0	0	21.7
<i>a</i>	0	0	0	0	8	0	7.9
<i>h</i>	0	0	0	0	0	8	25.9

여기서 各要因의 Level은 낮은편이 各各 -1, 높은편이 各各 +1이라고하여 變換을 하면 다음

Table 7. Factorial effect of maximum slope test

Step	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>l</i>	<i>a</i>	<i>h</i>	Yield(%)
0	45	20	34.5	60	10	67.0
1	46	18.69	34.78	64.21	10.35	
2	47	17.38	35.06	68.42	10.70	65.3
3	48	16.07	35.34	72.63	11.05	
4	49	14.76	35.62	76.84	11.40	59.8
5	50	13.45	35.90	81.05	11.75	
6	51	12.14	36.18	85.20	12.10	
7	52	10.83	36.46	89.47	12.45	
8	53	9.52	36.74	93.68	12.80	
9	54	8.21	37.02	97.89	13.15	
10	55	6.90	37.30	102.10	13.50	
11	56	6.59	37.58	106.31	13.85	
12	57	4.28	37.86	110.52	14.20	
13	58	2.97	38.04	114.73	14.55	
14	59	1.66	38.32	118.94	14.90	
15	60		38.60	123.15	15.25	
16	61		38.88	127.36	15.60	

2次式을 假定하여 실험을하였다. 1次式의 要因

Table 8. Three factors for central composite design

Factor	<i>h</i>	<i>l</i>	<i>t</i>
Zero point	10.70	35.06	17.38
Class	0.2	0.4	1.5
Level -2	10.30	34.26	14.38
-1	10.50	34.66	15.88
0	10.70	35.06	17.38
+1	10.90	35.46	18.88
+2	11.10	35.86	20.38

Table 9. Factorial effects of central composite design

Exp. No.	<i>H</i>	<i>L</i>	<i>T</i>	<i>y</i>
1	-1	-1	+1	60.3
2	+1	-1	-1	62.0
3	-1	+1	+1	60.5
4	+1	+1	-1	59.8
5	-1	-1	-1	64.2
6	+1	-1	+1	61.7
7	-1	+1	-1	62.8
8	+1	+1	+1	63.9
9	-2	0	0	61.5
10	+2	0	0	64.7
11	0	-2	0	60.5
12	0	+2	0	59.5
13	0	0	-2	57.9
14	0	0	+2	63.9
15	0	0	0	65.2
16	0	0	0	63.6

Table 10. Normal equations

	<i>I</i>	<i>H</i>	<i>L</i>	<i>T</i>	<i>H</i> ²	<i>L</i> ²	<i>T</i> ²	<i>HL</i>	<i>HT</i>	<i>LT</i>	<i>Y</i>
	<i>b</i> ' ₀	<i>b</i> ' ₁	<i>b</i> ' ₂	<i>b</i> ' ₃	<i>b</i> ' ₁₁	<i>b</i> ' ₂₂	<i>b</i> ' ₃₃	<i>b</i> ' ₁₂	<i>b</i> ' ₁₃	<i>b</i> ' ₂₃	<i>I</i>
<i>I</i>	16										=992.0
<i>H</i>		16									=6.0
<i>L</i>			16								=-3.2
<i>T</i>				16							=9.6
<i>H</i> ²	16				40	8	8				=1007.52
<i>L</i> ²	16				8	40	8				=981.28
<i>T</i> ²	16				8	8	40				=991.20
<i>HL</i>								8			=1.2
<i>HT</i>									8		=10.0
<i>LT</i>										8	=6.0

은水準이 2이었고 이는 2點이 決定되면 直線을 그릴수 있으나 2次曲線의 推定에는 最小한 3點 또는 그以上이 요구되므로 二次式的 假定에 必要한 要因의 Level 數는 3以上이어야 한다. 따라서 5要因 中 影響을 크게 미치는 反應液의 pH, Bunte's salt 의 量, 反應溫度의 3要因을 擇하여 各要因을 다시 3 Level 로 나누어 直交配列表에 따라 이를 有心複合計劃으로 組合하여 實驗한 結果는 Table 8, Table 9, Table 10과 같다.

$$y = b'_0 + b'_1 H + b'_2 L + b'_3 T + b'_{11} H^2 + b'_{22} L^2 + b'_{33} T^2 + b'_{12} HL + b'_{13} HT + b'_{23} LT \dots (4)$$

그런데 (4)式과 Table 9을 使用하여 Table 10과 같은 正規方程式을 얻었다.

上記 正規方程式을 聯立으을 풀어 다음의 (5) 식을 얻었다.

$$y = 61.5 + 0.375H - 0.2L + 0.6T + 0.61H^2 - 0.21L^2 + 0.1T^2 + 0.15HL + 1.25HT + 0.75LT \dots (5)$$

$\frac{\partial y}{\partial H} = 0$ 에서 $H = 6.93$, $\frac{\partial y}{\partial L} = 0$ 에서 $L = -0.136$,

$\frac{\partial y}{\partial T} = 0$ 에서 $T = -1.95$ 를 얻는다. *h, l, t*로 逆

變換하여 다음의 數値를 얻었다.

$H = \frac{h - 10.70}{0.2}$ 에서 $h = 12.086$, $L = \frac{l - 35.06}{0.4}$ 에

서 $l = 35.006$, $T = \frac{t - 17.38}{1.5}$ 에서 $t = 15.5875$

即 反應液의 pH : 12.09, Bunte's salt 量(B₁·HCl 20g 에 대한) : 35.01g, 反應溫度 : 15.59°C 로서

TTFD의 收率이 最大가 될수있는 最適條件임을 확인할수있다.

IV. 紫外吸收 Spectrum

TTFD, TPD의 紫外吸收 spectra는 Fig. 2,

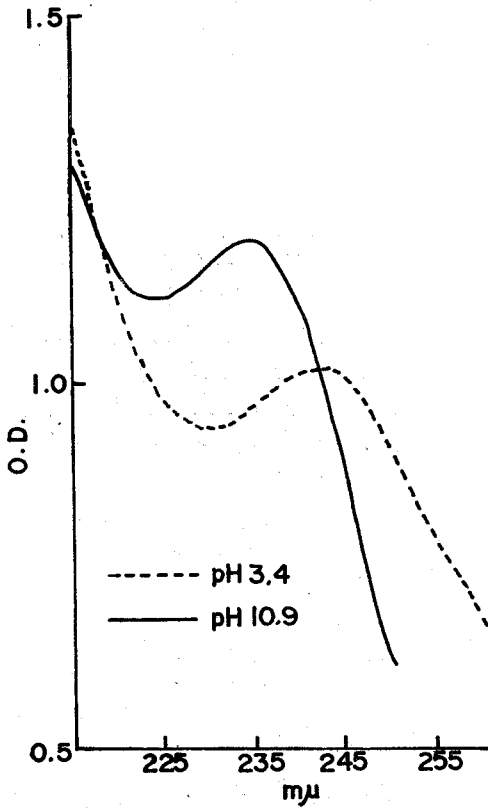


Fig. 2. UV absorption spectrum of TTFD

Fig. 3과 같이 TTFD는 最大吸收가 pH 3.4에서 244~246nm, pH 10.9에서는 234~235nm에서 存在하였으며 또 TPD는 pH 3.4에서 245~246nm, pH 10.9에서는 233~235nm에서 각각 最大吸收가 存在하였다. 따라서 pH變化에 따라 最大吸收波

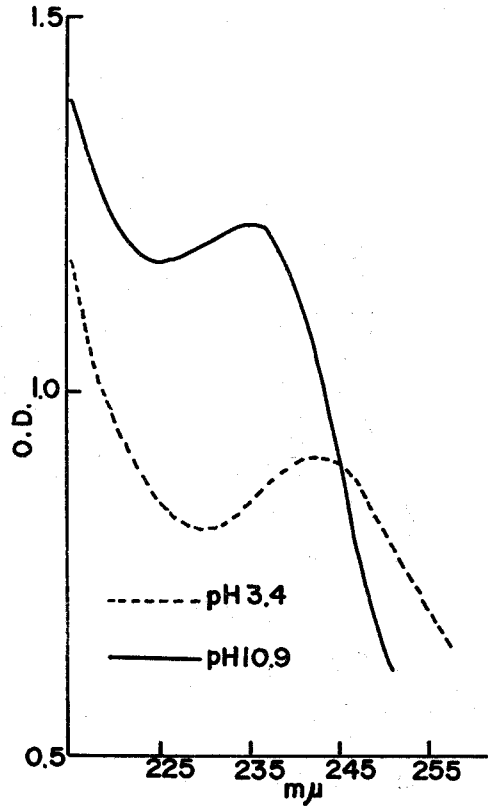


Fig. 3. Ultraviolet absorption spectrum of thiamine propyl disulfide

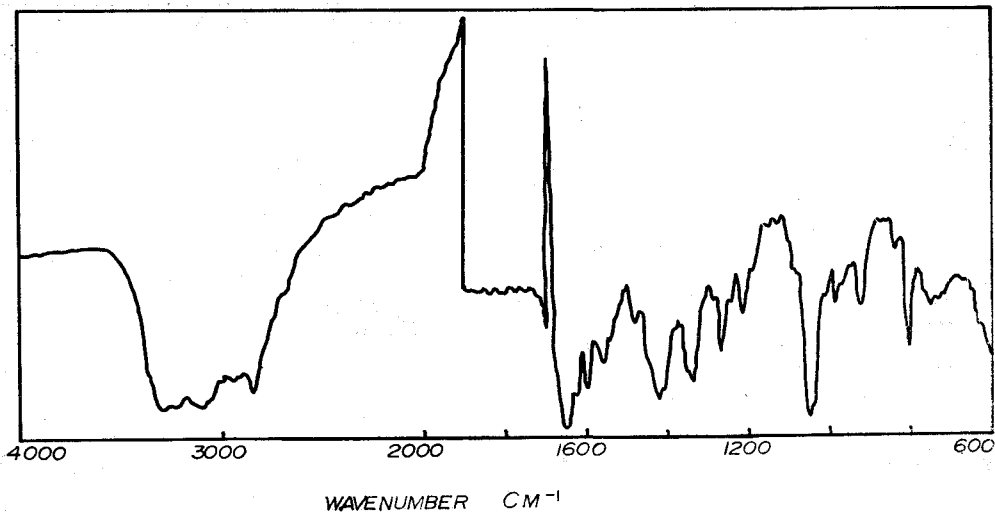


Fig. 4. IR spectrum of thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide

長의 shift 가 있음을 알수있다.

外吸收 spectra 는 Fig. 4, Fig. 5와같고 各吸收帶를 Table 11에 要約하였다.

V. 赤外吸收 Spectrum

固態(KBr disk 法)에 있어서 TTFD, TPD의 赤

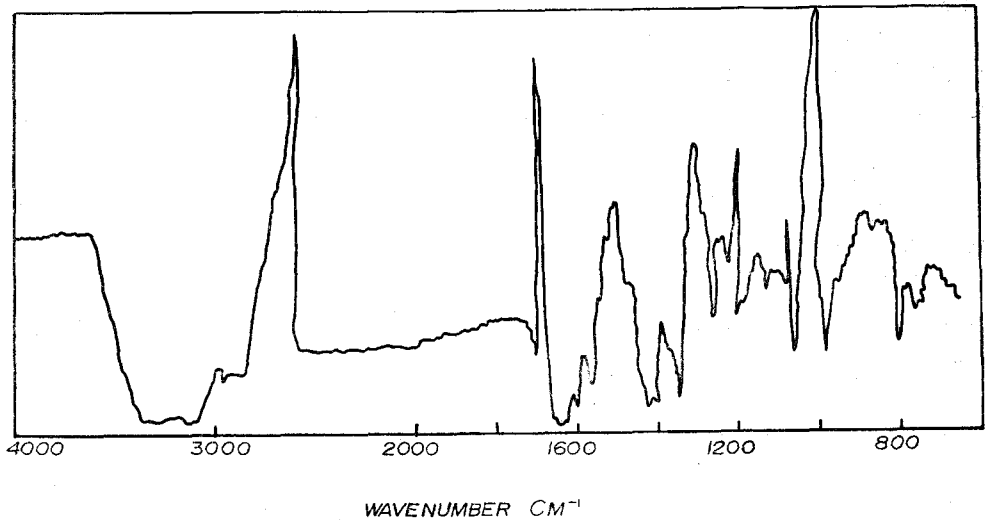


Fig. 5. IR spectrum of thiamine propyl disulfide

Table 11. Wave number equivalent to IR absorption band of TTFD and TPD
Thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide Thiamine propyl disulfide

~3300	ν_{NH_2}	~3300	ν_{NH_2}
3100	ν_{CH}	3100	ν_{CH}
2860	포화부분의 ν_{CH}	2960	포화부분의 ν_{CH}
1650	$\nu_{C=C}$	1640	$\nu_{C=C}$
1600	pyrimidine 유도체	1600	pyrimidine 유도체
1555	C=C-X(X=S) C=C 신축	1562	C=C 신축
1480	CH ₂ SCl, CH ₃ 축중변자	1480	CH ₂ SCl, CH ₃ 축중변자
1425	δ_{CH}	1425	δ_{CH}
1340	2 중결합에 붙은 CH ₃ 基	1350	2 중결합에 붙은 CH ₃ 基
1270	CH ₃ W, CH ₂ R, CH 변자	1268	CH ₃ W, CH ₂ R, CH 변자
1090	tetrahydrofurfuryl 基의 核	1130	C=CH-X CH 면내변자
1050	n-propanol	1060	n-propanol
985	ν_{CS}	985	ν_{CS}
923	δ_{CS} (면외), CH ₃ W	866	propyl 基의 직선분자진동
808	ν_{CS}	805	ν_{CS}
754	CH ₂ Rocking Vib.	760	CH ₂ Rocking Vib.

要 約

1. Sodium tetrahydrofurfuryl thiosulphate 製造에 使用하는 KI 를 使用하지 않아도 無妨하다.
2. Thiamine 유도체를 製造함에 있어 thiothiamine(SB₁)에서 出發하는 方法이 thiamine·HCl에서 出發하는 方法에 比하여 得量, 純度面에서 遜색이 없었다.
3. 紫外吸收 spectrum 의 最大吸收는 TTFD 는 pH 3.4 에서 244~246nm, pH 10.9 에서 234~235nm 을, (TPD) 는 pH 3.4 에서 245~246nm, pH 10.9 에서 233~235nm 을 각각 나타내었다.
4. 赤外吸收 spectrum 는 各吸收帶가 指示하는 官能基로써 TTFD, TPD 의 化學構造를 支持할 수 있다.
5. Box-wilson 計劃에 따라 TTFD 의 製造最適條件은 다음과 같다.
 - a. Thiol 型 B₁ 의 水溶液의 pH 는 12.09
 - b. B₁·HCl 20g 에 대하여 Bunte's salt 量은 35.01g
 - c. 反應溫度 15.59°C
6. TTFD, TPD 原料自體定량에는 非水滴定法이 좋고 그의 製劑의 定량에는 吸光度法이 簡便하고 再現性이 있었다.

References

1. Matsukawa, T. and Iwatsu, T.: Yakugaku Zasshi, 70 : 1217(1950).
2. Park, H.K.: Seoul University J. Pharm. Sci., 2 : 21(1977).
3. Matsukawa, T. and Kawasaki, H.: Yakugaku Zasshi, 73 : 218(1953).
4. Yurugi, S. and Fushimi, T.: Yakugaku Zasshi, 78 : 602(1958).
5. Yoshida, S.: Yakugaku Zasshi, 72 : 967 (1952).
6. Box, G.E.P. and Wilson, K.B.: J. Roy. Stat. Soc. B.B., 13 : 1(1951).
7. Okoda, J.: Kagaku no Ryouiki, 15 : 16 (1961).
8. Lah, W.L.: J. Pharm. Soc. Korea, 12 : 41 (1968).
9. Matsukawa, T. and Iwatsu, T.: Yakugaku Zasshi, 71 : 1251(1951)
10. Robberts, J.E.: J. Pharm. Sci., 57 : 912 (1968).