



УДК 547.866

### ИССЛЕДОВАНИЕ В РЯДУ АЛЛО- И ИЗОАЛЛОКСАЗИНА

#### XLV. СИНТЕЗ И СВОЙСТВА 8 $\alpha$ -ОКСИРИБОФЛАВИНА И ЕГО АЦЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

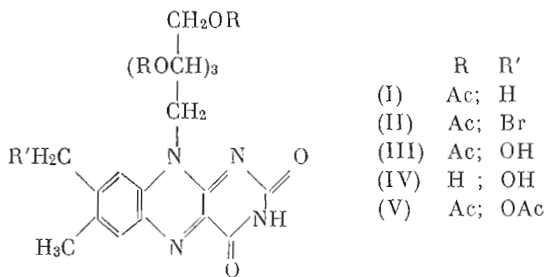
*Жилина Т. А., Шейман В. М., Мельникова Л. М.,  
Березовский В. М.*

*Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт,  
Москва*

Осуществлен синтез 8 $\alpha$ -оксирибофлавина (IV) и его производных из рибофлавина.

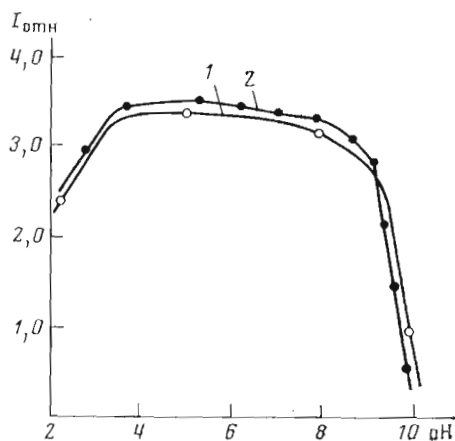
8 $\alpha$ -Оксирибофлавин (IV), по-видимому, служит промежуточным звеном в биосинтезе простетической группы сукцинатдегидрогеназы (КФ 1.3.99.1) [1—3]. Вероятно, 8 $\alpha$ -оксисоединение (IV) образуется также при длительном стоянии водных растворов 2',3',4',5'-тетраацетил-8-формил(нор)-рибофлавина при комнатной температуре [4]. Однако синтез 8 $\alpha$ -оксирибофлавина (IV) не описан и его физико-химические свойства не изучены.

В настоящей работе мы синтезировали 8 $\alpha$ -оксирибофлавин (IV), его 2',3',4',5'-тетраацетильное (III) и 2',3',4',5',8 $\alpha$ -пентаацетильное (V) производные.



Тетраацетилбромрибофлавин (II) был получен бромированием тетраацетилрибофлавина (I) по методу [2]. Положение в нем атома брома было установлено в работах [1, 2]. Нагревание соединения (II) в 30%-ном водном этаноле приводит к выделению тетраацетилоксирибофлавина (III), при кислотном гидролизе которого образуется 8 $\alpha$ -оксирибофлавин (IV). Наличие 8 $\alpha$ -оксигруппы в соединении (IV) было подтверждено его превращением в пентаацетат (V). 8 $\alpha$ -Оксирибофлавин (IV) получен в виде оранжевых призм с т. пл. 235,7—237,3°.

Строение соединений (III) — (V) подтверждено данными элементного анализа, электронными спектрами поглощения, спектрами ПМР; эти соединения охарактеризованы также спектрами флуоресценции и хроматографической подвижностью. В спектрах поглощения соединений (III) —



Зависимость интенсивности флуоресценции от pH для рибофлавина (1) и 8α-оксирибофлавина (2)

тонов ацетоксиметильной группы при 5,30 м. д. Максимум флуоресценции 8α-оксирибофлавина (IV) и других исследованных флавинов (III) и (V) лежит в пределах 500—520 нм (в этаноле). Зависимость флуоресценции 8α-оксирибофлавина (IV) от pH совпадает с таковой для рибофлавина (рисунк).

Наличие оксиметильной группы в положении 8 изоаллоксазинового цикла во всех исследованных системах растворителей, кроме системы А, понижает хроматографическую подвижность (по сравнению с 8α-незаме-

(V) наблюдается характерный для 8α-замещенных флавинов [1—3] гипсохромный сдвиг максимума второй полосы поглощения по сравнению с 8α-незамещенными флавинами. В спектрах ПМР 8α-оксирибофлавина (IV) и его тетраацетильного производного (III) в  $CF_3COOH$  имеются сигналы арильных протонов 6-СН и 9-СН в районе 8,35—8,85 м. д., трехпротонный сигнал 7-СН<sub>3</sub> при 2,77 м. д. и двухпротонный сигнал 8-оксиметильной группы, который находится в группе мультиплетных сигналов рибитильной цепи при 4—6 м. д., что подтверждается увеличением интегральной интенсивности в этой области на две протонные единицы. В спектре ПМР пентаацетата (V) в  $CDCl_3$  удается выделить сигнал про-

Соединение	$R_f$ *					
	А	Б	В	Г	Д	Е
(I)	0,96	0,83	0,84	0,79	0,98	0,33
(II)	0,96	0,83	0,84	0,74	0,96	0,36
(III)	0,93	0,65	0,69	0,63	0,82	0,03
Рибофлавин	0,66	0,41	0,41	0,40	0,68	0,00
(IV)	0,58	0,28	0,31	0,35	0,51	0,00
(V)	0,92	0,80	0,84	0,77	0,98	0,25

\* В системах А — Д — для восходящей ВХ на бумаге FN-11; в системе Е — для ТСХ на силуфоле. Системы растворителей: А — пиридин — изобутанол — вода — уксусная кислота (33 : 33 : 33 : 1), Б — n-бутанол — уксусная кислота — вода (4 : 1 : 5, верхняя фаза), В — n-бутанол — уксусная кислота — вода (4 : 2 : 2), Г — пиридин — метанол — вода (4 : 80 : 20), Д — ацетонитрил — вода (7 : 3), Е — ацетон — хлороформ (1 : 2).

щенными соединениями), в то время как ацетилирование этой оксиметильной группы и оксигрупп рибитильной боковой цепи в системах растворителей А—Е повышает хроматографическую подвижность (по сравнению с неацетилированными соединениями) (таблица).

### Экспериментальная часть

Спектры поглощения измерены в 96%-ном спирте на спектрофотометре «Hitachi — EPS-3T». Спектры ПМР снимали на приборе «Hitachi — Perkin—Elmer R-20A» при 60 мГц, спектры флуоресценции — на спектрофлуориметре «Hitachi MPF-2A» в этаноле.

Для изучения зависимости интенсивности флуоресценции от pH использовали следующие буферные растворы: глицин — 0,05 М HCl (pH 2,0—3,6), 0,2 М  $CH_3COONa$  — 0,2 М  $CH_3COOH$  (pH 4,0—5,6), 0,1 М  $Na_2HPO_4$  —

0,1 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 6,0—8,0), 1 М  $\text{NaHCO}_3$  — 1 М  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (рН 8,0—10,0). Температуры плавления веществ определяли на приборе «Уанасо МР-3Д».

2',3',4',5'-Тетраацетил-8 $\alpha$ -бромрибофлавин (II) получали из тетраацетилрибофлавина (I) по методике работы [2] с выходом 79%. Содержание соединения (II) оценивали по уменьшению интенсивности пика 8- $\text{CH}_3$ -группы в спектре ПМР (2,48 м. д. в  $\text{CDCl}_3$ ). ЭС\*,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon \cdot 10^{-4}$ ): 222 (3,07), 271 (3,22), 346 (0,81), 446 (1,09). ПМР:  $\delta_{\text{CF}_3\text{COOH}}$  8,12 (6-СН), 8,22 (9-СН), 2,72 (7- $\text{CH}_3$ ), 4,75 (8- $\text{CH}_2$ ), 1,90; 2,20; 2,31; 2,31 (ОАс-группы);  $\delta_{\text{CDCl}_3}$  7,87 (6-СН, 9-СН, центр широкого сигнала), 2,55 (7- $\text{CH}_3$ ), 4,70 (8- $\text{CH}_2$ ), 1,72; 2,05; 2,25; 2,25 (ОАс-группы). Флуоресценция:  $\lambda_{\text{макс}}$  508 нм ( $I_{\text{отн}}^*$  95)\*\*.

2',3',4',5'-Тетраацетил-8 $\alpha$ -оксирибофлавин (III). Раствор 1 г соединения (II) в 30%-ном водном этаноле нагревали 8 ч при 80°, затем упаривали досуха в вакууме при 60° и высушивали азеотропно с этанолом. Остаток растворяли в 10 мл абсолютного этанола и высаживали сухим эфиром. После переосаждения из метанола сухим эфиром сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Выход бромгидрата соединения (III) 0,75 г (70,3%); вещество разлагается выше 180°. ЭС,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon \cdot 10^{-4}$ ): 222 (3,38), 271 (3,60), 349 (0,86), 446 (1,19). ПМР:  $\delta_{\text{CF}_3\text{COOH}}$  8,35 (6-СН и 9-СН, центр широкого сигнала), 2,77 (7- $\text{CH}_3$ ), 2,24; 2,37; 2,65; 2,65 (ОАс-группы). Флуоресценция:  $\lambda_{\text{макс}}$  510 нм ( $I_{\text{отн}}^*$  164).

Найдено, %: С 46,90; Н 4,84; N 9,07; Br 12,16.  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_{11} \cdot \text{HBr}$ . Вычислено, %: С 46,81; Н 4,56; N 8,73; Br 12,45.

8 $\alpha$ -Оксирибофлавин (IV). Раствор 0,73 г бромгидрата соединения (III) в 12 мл 3 н.  $\text{HCl}$  нагревали 4 ч при 30—35°, нейтрализовали 25%  $\text{NH}_3$  до рН 7 и охлаждали до +5° в холодильнике. Осадок промывали водой (20 мл) и метанолом (20 мл). После двух перекристаллизаций из 80%-ного метанола и высушивания при 50°/1 мм получили 0,16 г (30,2%) соединения (IV) с т. пл. 235,7—237,3°. ЭС (ср. [5]),  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon \cdot 10^{-4}$ ): 222 (2,90), 268 (3,10), 363 (0,82), 445 (1,05); (в 6 н.  $\text{HCl}$ ) 266 (2,78), 385 (1,64). ПМР:  $\delta_{\text{CF}_3\text{COOH}}$  8,47 (6-СН), 8,85 (9-СН), 2,77 (7- $\text{CH}_3$ ). Флуоресценция:  $\lambda_{\text{макс}}$  508 нм ( $I_{\text{отн}}^*$  98).

Найдено, %: С 51,80; Н 5,25; N 14,41,  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_7$ . Вычислено, %: С 52,03; Н 5,13; N 14,79.

2',3',4',5'-Тетраацетил-8 $\alpha$ -ацетоксирибофлавин (V). Смесь 0,32 г соединения (IV), 12 мл уксусного ангидрида и 1,5 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  нагревали 2 ч при 50°. Реакционную массу выливали в 200 мл воды со льдом, желтое масло отделяли, растворяли в хлороформе и сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отгоняли, остаток растряли с эфиром до образования светло-желтого кристаллического осадка. После переосаждения из метанола эфиром и сушки при 50°/1 мм получили 0,21 г (52,5%) соединения (V) с т. пл. 183,1—184,7°. ЭС,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon \cdot 10^{-4}$ ): 222 (3,04), 271 (3,17), 344 (0,73), 446 (1,08). ПМР:  $\delta_{\text{CF}_3\text{COOH}}$  8,15 (6-СН и 9-СН), 2,62 (7- $\text{CH}_3$ ), 1,87; 2,17; 2,29; 2,29; 2,29 (ОАс-группы);  $\delta_{\text{CDCl}_3}$  7,80 (6-СН и 9-СН), 2,47 (7- $\text{CH}_3$ ), 5,30 (8- $\text{CH}_2$ ), 1,72; 2,10; 2,25; 2,25; 2,40 (ОАс-группы). Флуоресценция:  $\lambda_{\text{макс}}$  508 нм ( $I_{\text{отн}}^*$  174).

Найдено, %: С 53,25; Н 5,06; N 9,06.  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_{12}$ . Вычислено, %: С 53,82; Н 5,02; N 9,29.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Salach J., Walker W. H., Singer T. P., Ehrenberg A., Pemmerich P., Ghisla S., Hartmann U. (1972) Eur. J. Biochem., 26, 267—278.
2. Walker W. H., Singer T. P., Ghisla S., Pemmerich P. (1972) Eur. J. Biochem., 26, 279—289.

\* ЭС — электронный спектр поглощения.

\*\* Здесь и далее величина  $I_{\text{отн}}^*$  дана в % по отношению к интенсивности флуоресценции рибофлавина; спектры не корректированы. Длина волны возбуждения 445 нм.

3. Singer T. P., Edmondson D. E. (1974) FEBS Lett., 42, 1—14.
4. Edmondson D. E. (1974) Biochemistry, 13, 2817—2821.
5. Walker W. H., Kenney W. C., Edmondson D. E., Singer T. P., Cronin J. R., Hendricks R. (1974) Eur. J. Biochem., 48, 439—448.

Поступила в редакцию  
12.XI.1975

После переработки  
4.II.1976

**STUDIES ON ALLO- AND ISOALLOXAZINES. XLV. THE SYNTHESIS AND  
PROPERTIES OF 8 $\alpha$ -HYDROXYRIBOFLAVIN AND ITS ACETYL DERIVATIVES**

ZHILINA T. A., SHEIMAN B. M., MELNIKOVA L. M.,  
BEREZOVSKY V. M.

*All-Union Institute for Vitamin Research, Moscow*

8 $\alpha$ -Hydroxyriboflavin and its tetra- and pentaacetyl derivatives have been synthesized from 8 $\alpha$ -bromo-2',3',4',5'-tetraacetylriboflavin. Visible and UV absorption spectra, as well as NMR- and fluorescence spectra have been studied.

---