



УДК 577.164.12.07. + 577.15.013

НУКЛЕОТИДЫ, КОФЕРМЕНТЫ, ФОСФОРНЫЕ ЭФИРЫ

XXX. СИНТЕЗ 8-ДИМЕТИЛАМИНО(НОР)ФЛАВИНМОНОНУКЛЕОТИДА

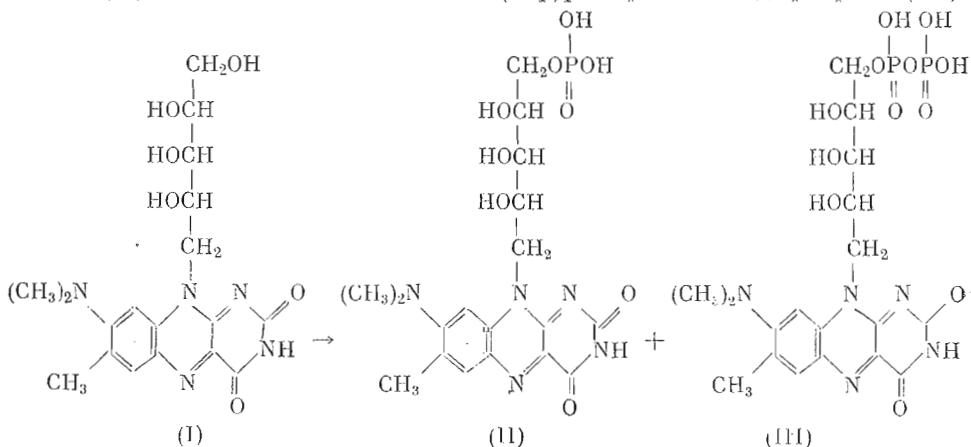
Фетисова Т. П., Березовский В. М.

Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва

Аналог FMN — 8-диметиламино(нор)флавиномононуклеотид получен фосфорилированием 8-диметиламино(нор)рибофлавина диметиловым эфиром монохлорангидрида ортофосфорной кислоты с последующим гидролизом. Вещество охарактеризовано спектрами поглощения в УФ- и видимой области, спектром ПМР и хроматографической подвижностью. Определены величины pK_a . Реакция фосфорилирования сопровождается образованием 8-диметиламино(нор)рибофлавин-5'-дифосфата.

Недавно в *Streptomyces davauensis* (штамм № 768), выделенном из филиппинской почвы, был обнаружен аналог рибофлавина — 8-диметиламино(нор)рибофлавин (I), который оказался активным против грамположительных бактерий и способным к обратимому переносу электрона [1, 2]. Однако остается открытым вопрос, входит ли 8-диметиламино(нор)рибофлавин в структуру соответствующих флавопротеидов микроорганизма в виде своих фосфорилированных форм (аналогичных FMN и FAD), или его биосинтез осуществляется с целью создания защитной функции против других микроорганизмов.

Мы впервые синтезировали аналог FMN — 8-диметиламино(нор)рибофлавин-5'-фосфат (II) путем фосфорилирования 8-диметиламино(нор)рибофлавина (I) диметиловым эфиром монохлорангидрида ортофосфорной кислоты по методу [3]. В соответствии с этим методом фосфорилирование протекало преимущественно по первичной 5'-гидроксильной группе рибитильной цепи и после кислотного гидролиза первоначально образовавшихся в реакции диметиловых эфиров фосфатов было получено ~50% соединения (II) и ~10% 8-диметиламино(нор)рибофлавин-5'-дифосфата (III).



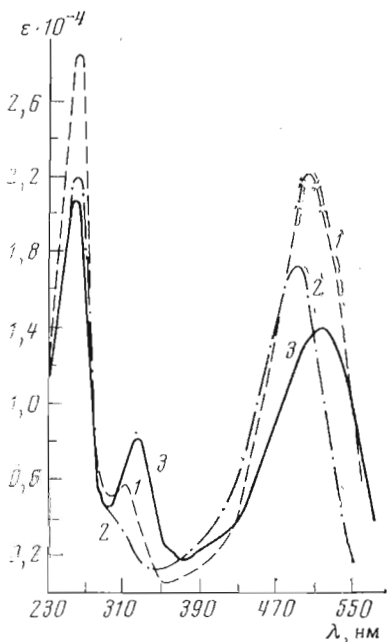


Рис. 1

Рис. 1. Спектры поглощения в УФ- и видимой области 8-диметиламино-(нор)рибофлавин-5'-фосфата (II) при pH 7,2 (1), 12,9 (2), 1,4 (3)

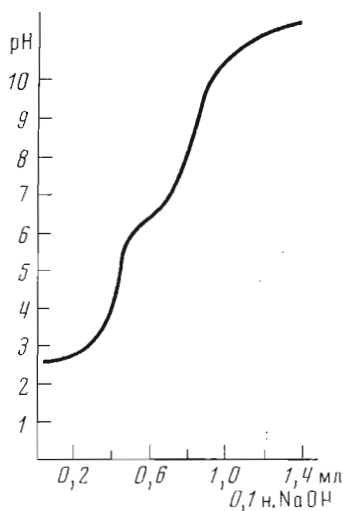


Рис. 2

Рис. 2. Кривая потенциометрического титрования 8-диметиламино(нор)-рибофлавин-5'-фосфата (II) 0,1 н. NaOH

Смесь фосфатов разделили на сильнокислом катионите КУ-2 в H^+ -форме по методу [4]: при элюции водой сначала вымывается дифосфат (III), затем монофосфат (II), а исходный нефосфорилированный диметиламиноаналог рибофлавина (I) полностью удерживается катионитом.

8-Диметиламино(нор)рибофлавин-5'-фосфат (II) представляет собой темно-красное кристаллическое вещество, в отличие от FMN не флуоресцирующее в водных и спиртовых растворах. Его электронный спектр поглощения (рис. 1), так же как и спектр производного (III), аналогичен спектру исходного нефосфорилированного соединения (I) [2]. Фосфат (II) является двухосновной кислотой и в соответствии с этим обнаруживает на кривой потенциометрического титрования два перегиба, отвечающие pK_a 4,8 и 8,8 (рис. 2). Его строение было подтверждено также данными элементного анализа и спектра ПМР, в котором обнаружены синглетные сигналы гетероциклического ядра и ряд мультиплетов рибитильной части молекулы (см. «Экспериментальную часть»).

Полученные моно- (II) и дифосфат (III) хроматографически индивидуальны (таблица). Они характеризуются уменьшением подвижности на

Хроматографическая подвижность R_f (на бумаге)

Соединение	R_f в системах		
	А	Б	В
8-Диметиламино(нор)рибофлавин(I)	0,46	0,51	0,31
Рибофлавин	0,51		
Монофосфат(II)	0,28	0,14	0,18
FMN	0,26	0	0
Дифосфат(III)	0,14		
Рибофлавин-5'-дифосфат	0,12		

бумаге при увеличении числа фосфатных звеньев у 5'-гидроксильной группы, что отвечает аналогичным данным для 5'-фосфатов рибофлавина. В некоторых хроматографических системах растворителей (например, в системе А) для соответствующих групп этих соединений величины R_f весьма близки между собой.

Экспериментальная часть

Спектры поглощения в УФ- и видимой области записаны на спектрофотометре Hitachi-EP5-3T, спектры ПМР — на спектрофотометре Н-60 фирмы Hitachi-Perkin-Elmer R-20A с внутренним стандартом — натриевой солью 2,2-диметил-2-силапентаи-5-сульфокислоты. Хроматографирование проводили на бумаге марки «Ленинградская Б» в нисходящем потоке; системы растворителей: изобутанол — пиридин — вода — уксусная кислота, 33 : 33 : 33 : 1 (А); *трет*-бутанол — пиридин — вода, 60 : 15 : 25 (В); *н*-бутанол — уксусная кислота — вода, 4 : 1 : 5 (В).

8-Диметиламино(нор)рибофлавин-5'-фосфат(II). К 3 мл диметилового эфира монохлорангидрида ортофосфорной кислоты [3] постепенно прибавляли 0,5 г 8-диметиламино(нор)рибофлавина (I) [2] и выдерживали 3 ч при 45—50°, при этом образовывалась густая темно-коричневая масса. После охлаждения к ней для разложения избытка фосфорилирующего агента прибавляли 1,2 мл воды и затем нагревали 30 мин при 80°. Смесь охлаждали, прибавляли 8 мл *н*-бутанола, через 18 ч выпавший осадок отделяли декантацией, растворяли в воде, наносили на колонку с сильнокислым катионитом КУ-2 в H^+ -форме и элюировали водой. Ход разделения контролировали с помощью хроматографии на бумаге в системе А. Фракции, содержащие дифосфат (III) (выход, определенный спектрофотометрически, 10—12%) и монофосфат (II), упаривали в вакууме и высушивали упариванием с безводным этанолом и бензолом. Выход соединения (II) 0,3 г (50%). Спектр поглощения (вода, pH 7,2), $\lambda_{\text{макс}}$, нм ($\epsilon \cdot 10^{-4}$): 259 (2,85), 274 пл. (1,58), 315 (0,57), 505 (2,21) [ср. спектр поглощения соединения (I) [2] (вода, pH 6,99): 225 пл. (1,27), 259 (3,82), 275 пл. (2,03), 314 (0,80), 505 (3,11)]. ПМР (D_2O), δ , м. д.: 2,35 (3H, 7-CH₃), 3,28 (6H, 8-NMe₂), 6,48 (1H, 6-H) и 6,90 (1H, 9-H). Найдено, %: N 13,8; P 5,3. C₁₈H₂₂N₅O₉P. Вычислено, %: N 14,4; P 6,4.

ЛИТЕРАТУРА

1. Otani S., Takatsu M., Nakano M., Kasai S., Miura R., Matsui K. (1974) J. Antibiot., 27, 88—89.
2. Kasai S., Miura R., Matsui K. (1975) Bull. Chem. Soc. Jap., 48, 2877—2880.
3. Березовский В. М., Артемкина Р. В., Хомутова Е. Д. (1964) Ж. общ. химии, 34, 2791—2796.
4. Березовский В. М., Артемкина Р. В., Чернова М. А. (1965) Ж. общ. химии, 35, 677—681.

Поступила в редакцию
20.VII.1976

После доработки
11.VIII.1976

NUCLEOTIDES, COENZYMES, PHOSPHORIC ESTERS. XXX. SYNTHESIS OF 8-DIMETHYLAMINO(NOR)FLAVINMONONUCLEOTIDE

FETISOVA T. P., BEREZOVSKII V. M.

All-Union Institute for Vitamin Research, Moscow

A FMN analog, 8-dimethylamino(nor)flavinmononucleotide, has been synthesized from 8-dimethylamino(nor)riboflavin using phosphorylation with dimethyl ester of phosphoric acid monochloride and subsequent hydrolysis. For the product obtained the data on chromatographic mobility, as well as those of absorption spectra in ultraviolet or visible regions and NMR-spectra are presented. The pK_a values are determined. The phosphorylation reaction was found to be accompanied by the formation of 8-dimethylamino(nor)riboflavin 5'-diphosphate.