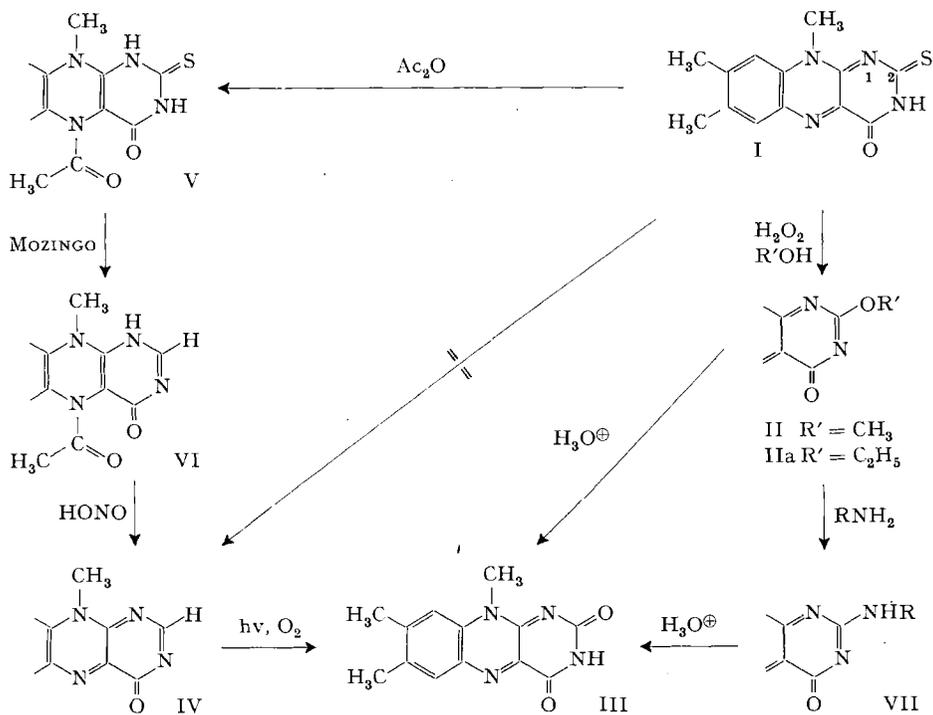


Fig. 1. IR.-Spektren.

Reaktionsschema



Beweisend für die Struktur II war das NMR.-Spektrum, welches keine für die vermutete Struktur IV zu fordernde, im Vergleich mit III zusätzliche CH-Gruppe anzeigte, dafür aber eine zusätzliche O-Methylgruppe (Tab. 2).

Beim Vergleich dieses NMR.-Spektrums mit demjenigen des von uns auf anderem Wege [4] erhaltenen Lumiflavin-2-iminol-äthylesters (IIa) erwiesen sich beide Spek-

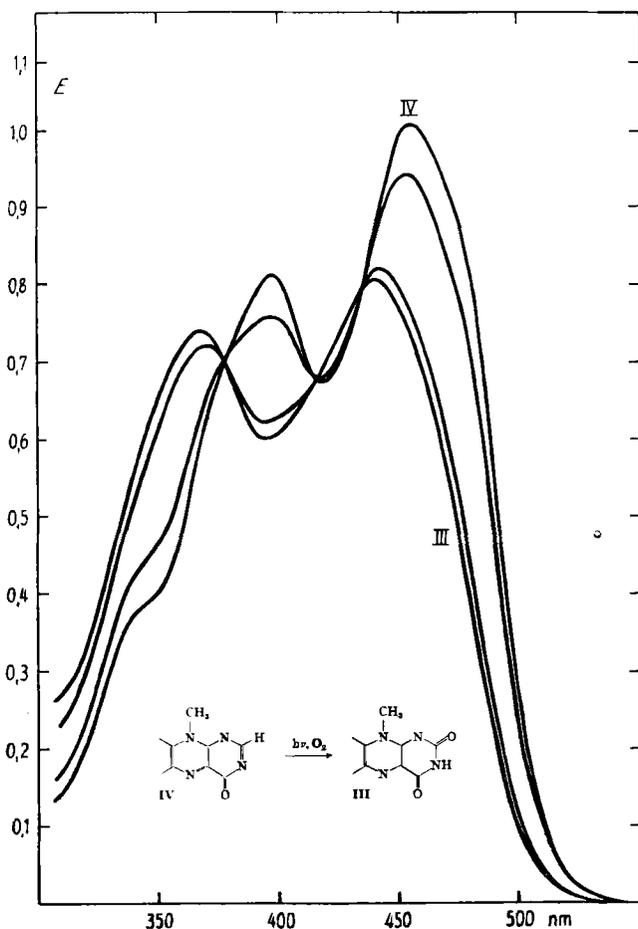


Fig. 2. Photooxydation von IV zu III spektroskopisch verfolgt.

tren bis auf den Unterschied einer OCH_3 - gegenüber einer OC_2H_5 -Gruppe identisch. Weiterhin waren die IR.-CO-Banden identisch (Fig. 1), ebenso die Spektren im Sichtbaren und im UV., die Basizität und die Hydrolyse zu III. Offenbar ist demnach die oxydative Entschwefelung von I begleitet von der Addition einer Solvens-Molekel CH_3OH in Stellung 2 des Flavinkerns.

Die Flaviminolester II sind ebenso wie die von uns früher beschriebenen Thioester-Analogen [2] hochaktiv. Sie setzen sich mit Aminen zu Flaviminen VII (durch Vergleich mit authentischen Präparaten [1] identifiziert) um. Im Wasser werden die

Ester II schon ab pH 2 langsam verseift. Lumiflavin (III) und seine 2-Iminolester (oder Imino-äther) II lassen sich, wie aus Tab. 1 ersichtlich, spektrophotometrisch nicht leicht unterscheiden, so dass ihr Auftreten *in vivo* als aktive Zwischenprodukte bei der oxydativen Phosphorylierung nicht *a priori* ausgeschlossen erscheint [6].

Das «wahre» Desoxyflavin (IV) konnten wir auf anderem Wege erhalten und zwar aus dem von uns früher [5] beschriebenen 2-Desoxy-5-acetyl-leukolumiflavin (VI). Dessen saure Verseifung ergab damals ein nicht isolierbares, tiefgrün fluoreszierendes Zwischenprodukt, welches quantitativ in III überging, woraus auf die Instabilität der 2-ständigen Methin-Gruppe in IV gegenüber O₂ erstmals geschlossen wurde.

Wie wir inzwischen gefunden hatten [4], lassen sich Leukoflavine sehr schonend und direkt, d. h. unter Vermeidung der Semichinonzwischenstufe, mit Hilfe eines Radikalfänger-Oxydans (HONO) zu Flavochinon aufoxydieren. Mittels dieser Methode erhielten wir aus VI in perchlorsaurer wässriger Lösung das kristalline Perchlorat des früher nur papierchromatographisch festgestellten Zwischenprodukts IV.

Dieses Salz erwies sich fest und in konzentrierter wässriger Lösung unterhalb pH 9 überraschend stabil. Der Übergang in III stellte sich als eine – vor allem in verdünnter Lösung und auf den lichtausgesetzten Chromatogrammen leicht eintretende – Photooxydation heraus (Fig. 2). Das «wahre» Desoxyflavin (IV) entspricht den oben erwähnten Kriterien 1–4, wie folgende Befunde zeigen.

1) Die Banden im Gebiet von 300–500 nm sind noch mehr als bei II nach längeren Wellen verschoben (Tab. 1). Die 2-Oxo-Gruppe des natürlichen Flavins hat somit antiauxochromen Charakter.

2) Das Desoxyflavin IV ist ähnlich basisch wie der Iminolester II.

3) Sowohl das Desoxyflavin IV, wie die Iminolester II gehen leicht in die natürlichen Flavine über, ersteres durch Photooxydation, letztere durch Hydrolyse.

4) Die 2-CO-Bande fehlt, wie vorauszusetzen ist, bei IV ebenso wie bei II. Dass tatsächlich die 2-CO-Bande fehlt, geht aus dem Vergleich der in Tab. 1 zusammengestellten Carbonylabsorptionen hervor.

Experimentelles. – *Dünnschichtchromatographie.* Als stationäre Phase wurde MN-Kieselgel S¹) mit folgenden Fließmitteln verwendet: A: Butanol/Äthanol/Wasser 7:2:1; B: Butanol/Äthanol/2N HClO₄ 7:2:1; C: Butanol/Eisessig/Wasser 7:2:1.

Spektren: Im Bereich 200–700 nm wurden sie mit einem BECKMAN-DB-Gerät aufgenommen, im IR. in KBr-Presslingen mit einem BECKMAN-IR-8-Gerät. Die NMR.-Spektren wurden auf einem VARIAN-A-60-Spektrometer aufgenommen.

Synthesen. – *2-Desoxylumiflavin (IV).* In eine Aufschlammung von 150 mg 2-Desoxy-5-acetyl-leukolumiflavin (VI) [5] in 20 ml 2N HClO₄ tropft man langsam eine konzentrierte Lösung von NaNO₂ in H₂O, bis fast alles gelöst ist. Dann wird im Vakuum bei 50° eingengt, wobei sich hellgelbe glänzende Plättchen des Perchlorats von IV abscheiden. Zersetzungspunkt um 280°. IV läuft im System B (als Perchlorat) einheitlich, Rf: 0,1, zum Vergleich Rf-Werte von III: 0,4 und von II: 0,2. Zur Analyse wurde das Perchlorat aus 2N HClO₄ umkristallisiert:

C₁₃H₁₃O₅N₄Cl (340,7) Ber. C 45,83 H 3,85 N 16,44% Gef. C 45,50 H 3,90 N 16,30%

Aus dem Perchlorat erhält man durch Digerieren mit Phosphatpuffer, Extraktion mit Chloroform und Kristallisation aus Äther das rotbraune 2-Desoxylumiflavin (IV), Zersp. um 210°.

Oxydative Entschwefelung von 2-Thiolumiflavin (I). 500 mg I [5] werden in 50 ml Chloroform, 60 ml abs. Methanol, 5 ml Eisessig und 0,5 ml 30-proz. H₂O₂ 3 Std. bei Zimmertemperatur ge-

¹) Produkt der Firma MACHEREY, NAGEL & Co., 516 Düren (Deutschland).

schüttelt, wobei die anfangs rote Lösung allmählich nach rotbraun umschlägt. Im Dünnschichtchromatogramm (Fließmittel C) treten anfänglich neben I 3 weitere Komponenten auf: eine violette ($R_f < R_f I$), eine grünfluoreszierende II ($R_f II \ll R_f I$), und III. Mit fortschreitender Reaktion verschwindet der violette Fleck und am Ende der Reaktion findet man dünn-schichtchromatographisch neben wenig I nur II und III zu ungefähr gleichen Teilen. Man filtriert und wäscht den Rückstand – 160 mg, im wesentlichen Lumiflavin (III) – mit wenig 2N H_2SO_4 . Das Filtrat wird im Vakuum eingeeengt, mit 0,1N H_2SO_4 aufgenommen und unter Zusatz von wenig Kohle erneut filtriert, 5mal mit je 30 ml Chloroform extrahiert (Chloroform-Phase enthält nur Lumiflavin), dann mit $NaHCO_3$ neutral gestellt und erneut 3mal mit je 70 ml Chloroform extrahiert. Die mit Na_2SO_4 getrocknete Chloroform-Phase wird nun im Vakuum eingedampft. Den Rückstand nimmt man mit wenig Methanol auf und versetzt vorsichtig mit Äther. Bei Raumtemperatur scheiden sich innert 12 Std. 0,07 g (18,9% der Th.) orange Prismen ab. Smp. 224–227°.

$C_{14}H_{14}O_2N_4$	Ber. C 61,9	H 5,5	N 20,6	(O) CH_3 5,5%
(271,2)	Gef. „ 60,2	„ 5,4	„ 20,2	„ 5,5%

II geht durch Hydrolyse bei pH 2 und 13 quantitativ in Lumiflavin (III) über. Mit wasserfreien Basen, z. B. Morpholin, reagiert II bei mehrstündigem Erwärmen auf 60° zu den entsprechenden Aminen [1].

Die NMR-Spektren verdanken wir Herrn K. AEGERTER vom Institut für Organische Chemie der Universität Basel (Leiter Prof. C. A. GROB) und die Ausführung der Mikroanalysen dem Mikroanalytischen Laboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT (Dr. W. PADOWETZ). Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG danken wir für die finanzielle Unterstützung.

SUMMARY

The synthesis of 2-desoxy- and 2-O-alkyl-flavins is described. The latter which are iminol esters (or imino ethers) are found to be highly active, and might therefore be considered important in flavoprotein catalysis.

Institut für Anorganische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 10. Mitteilung: F. MÜLLER & P. HEMMERICH, *Helv.* **49**, 2352 (1966).
- [2] F. MÜLLER, P. HEMMERICH & H. ERLIENMEYER, *Experientia* **18**, 498 (1962).
- [3] K. H. DUDLEY, A. EHRENBERG, P. HEMMERICH & F. MÜLLER, *Helv.* **47**, 1354 (1964).
- [4] K. H. DUDLEY & P. HEMMERICH, in Vorbereitung.
- [5] P. HEMMERICH & H. ERLIENMEYER, *Helv.* **40**, 180 (1956).
- [6] P. E. GLAHLN & S. O. NIELSEN, *Nature* **183**, 1578 (1959).
- [7] C. H. SUELTER & D. E. METZLER, *Biochim. biophys. Acta* **44**, 23 (1960).