

FOTOCHEMICZNE PRZEMIANY RYBOFLAWINY I ZWIĄZKÓW POCHODNYCH
W ROZPUSZCZALNIKACH ORGANICZNYCH

Violetta Szczęsna

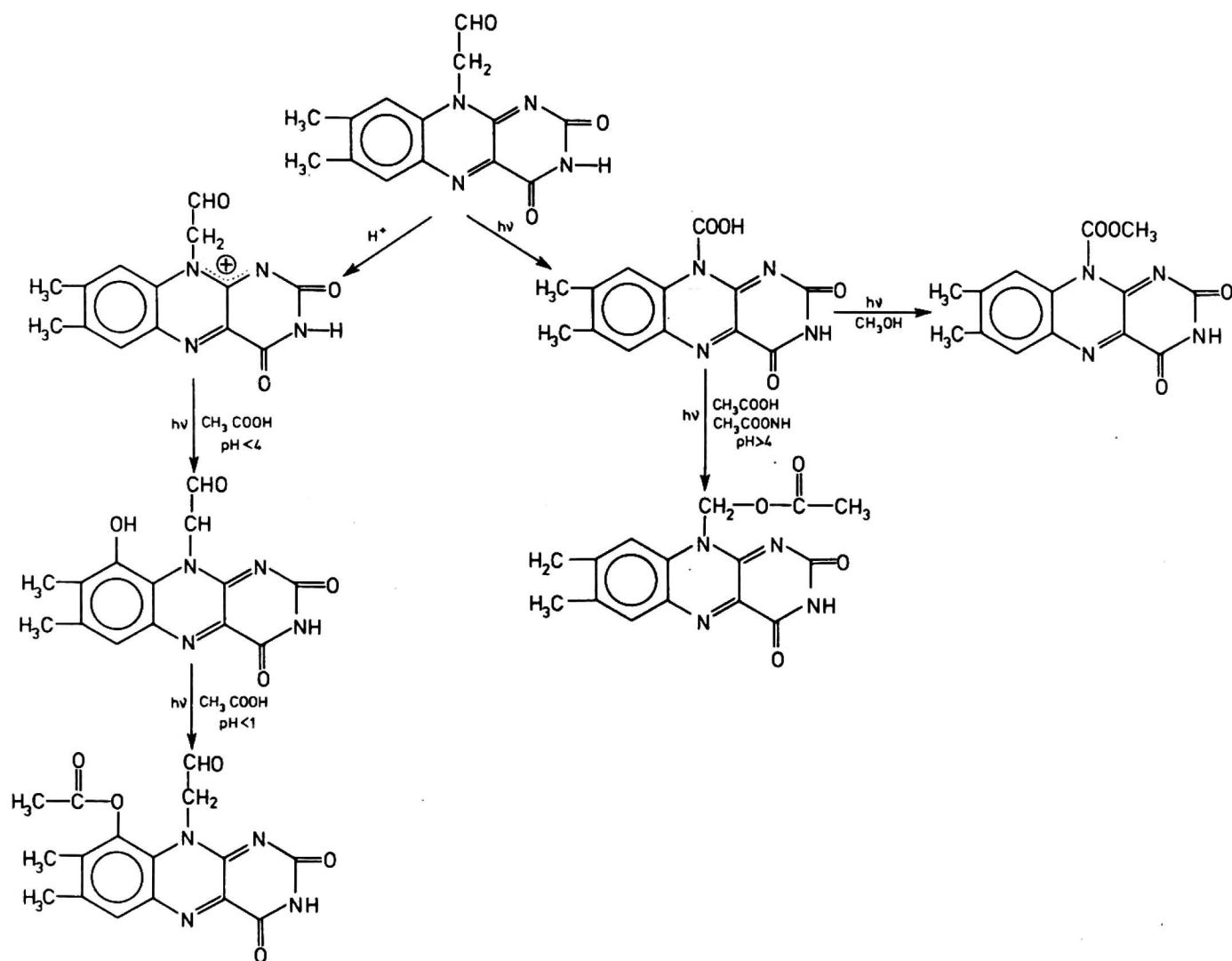
Instytut Towaroznawstwa Akademii Ekonomicznej,
60-697 Poznań, ul. Marchlewskiego 146/150

Flawiny (izoalloksazyny) są bardzo wrażliwe na działanie światła. Reakcje fotochemiczne flawin w roztworach wodnych są już dobrze poznane, mniej natomiast wiadomo o przemianach związków flawinowych w rozpuszczalnikach organicznych. Pierwsze informacje na temat innego przebiegu fotolizy flawin w rozpuszczalnikach organicznych pochodzą z prac J. Koziola [1] oraz M. Greena i G. Tollina [2-4]. Autorzy ci zaobserwowali wzrost fotolabilności izoalloksazyn w rozpuszczalnikach organicznych o niskiej polarności. W latach 1966-1972 ukazały się w literaturze wzmianki na temat specyficznego oddziaływania niektórych rozpuszczalników organicznych z flawinami w stanie wzbudzonym [5-9], co skłoniło nas do bliższego zajęcia się tym problemem.

Celem badań nad fotolizą ryboflawiny (Rb) było sprawdzenie reaktywności flawin w stanie wzbudzonym w środowisku niewodnym. Ze względu na złożoność tego procesu w przypadku ryboflawiny pracę rozszerzono na związki flawinowe z dwuwęglowym łańcuchem bocznym 10-formylometyloflawinę (FMF) i 10-hydroksyetyloflawinę (HEF). Uprościło to znacznie przebieg fotolizy oraz pozwoliło na łatwiejsze wyodrębnianie produktów fotodegradacji.

Badania nad fotolizą flawin w kwasie octowym wykazały dużą reaktywność tych związków. Ryboflawina rozkłada się w kwasie octowym bardzo szybko, a jej fotodegradacja prowadzi do powstania 7 produktów. W największych ilościach tworzą się: 7,8-dwumetylo-10-formylometyloizoalloksazyna (FMF), lumichrom, 7,8-dwumetylo-10-acetoksymetyloizoalloksazyna (AcMF), przy czym bezpośrednio z ryboflawiny powstaje tylko FMF i Lc, natomiast AcMF powstaje bezpośrednio z 7,8-dwumetylo-izoalloksazyny.

Największą reaktywność w środowisku kwasu octowego wykazuje 7,8-dwumetylo-10-formylometyloizalloksazyna (FMF). Reaktywność tego związku w obecności kwasów karboksylowych zależy od pH fotolizowanych roztworów. W buforach octanowych o pH 4,0, 5,0, 5,6 w wyniku fotolizy FMF powstaje głównie AcMF oraz niewielkie ilości lumichromu. Powstawanie AcMF jest procesem, który polega na fotolitycznym utlenieniu grupy aldehydowej FMF z utworzeniem 7,8-dwumetylo-10-karboksymetyloizalloksazyny (CMF). Obecności CMF nie stwierdzono chromatograficznie, ale potwierdza ją fotoliza FMF w alkoholach, której głównymi produktami są estry 7,8-dwumetylo-10-karboksymetyloizalloksazyny. Następnym etapem jest dekarboksylacja CMF i acetylacja (rys.1).



Rys. 1. Reaktywność 7,8-dwumetylo-10-formylometyloizalloksazyny w kwasie octowym

W przypadku fotolizy FMF w bezwodnym kwasie octowym i 1M roztworze wodnym kwasu octowego zwiększa się odporność fotolityczna tego związku na skutek protonizacji 7,8-dwumetylo-10-formylomety-

loizoalloksazyny przez kwas octowy, a główną drogą fotolizy staje się hydroksylacja w pozycji 9, w wyniku której powstaje 7,8-dwumetylo-9-hydroksy-10-formylometyloizoalloksazyna. Fotoaddycja grupy hydroksylowej jest możliwa dzięki występowaniu FMF w formie pół-acetalu, którego wolna grupa OH przyłącza się do pozycji 9 struktury izoalloksazynowej (schemat). W tych warunkach powstaje również AcMF, ale wydajność jej znacznie spada w porównaniu z przebiegiem fotolizy w buforach octanowych. Fotoliza FMF w 0,1 N roztworze HCl w kwasie octowym powoduje powstawanie małych ilości AcMF, 9-hydroksy FMF oraz nowego produktu, który jest estrem 9-hydroksy FMF i kwasu octowego.

Z przeprowadzonych badań wynika, że reaktywność FMF jest inna w różnych formach jonowych. Forma obojętna uczestniczy w powstawaniu AcMF oraz Lc, natomiast nie tworzą się w tych warunkach pochodne hydroksylowe. Reaktywną formą FMF w reakcjach fotohydroksylacji jest jej monokation [10].

Głównym produktem fotolizy 7,8-dwumetylo-10-hydroksyetyloizoalloksazyny (HEF) w kwasie octowym jest również 10-acetoksy FMF. Acylowanie łańcucha bocznego może nastąpić po utlenieniu HEF do FMF, której obecność potwierdziła analiza chromatograficzna roztworów. Następnie FMF jest fotolitycznie utleniana do CMF, która ulega dekarboksylacji i acetylacji kwasem octowym. W roztworach HEF w kwasie octowym stwierdzono obecność homologu AcMF o dłuższym łańcuchu bocznym 7,8-dwuetylo-10-acetoksyetyloizoalloksazynę (AcEF). Związek ten tworzy się bezpośrednio z HEF przez estryfikację grupy OH w pozycji 2' kwasem octowym.

Powstawanie specyficznych produktów fotolizy stwierdzono również w alkoholach. Reaktywność fotochemiczna flawin w alkoholach polega na utlenieniu FMF do CMF, która w środowisku alkoholowym ulega estryfikacji (schemat 1). Dla pozostałych rozpuszczalników organicznych (dioksan, aceton, pirydyna, chloroform) nie stwierdzono powstawania specyficznych produktów fotolizy. Wyniki badań wykorzystano dla sprawdzenia korelacji między szybkością fotolizy a wyrażoną w jednostkach „Z” skali Kosowera [6] polarnością rozpuszczalników organicznych. Na ich podstawie można stwierdzić, że korelacja między tymi wielkościami występuje tylko dla rozpuszczalników, w których przebieg fotolizy jest podobny, tzn. powstają takie same produkty fotolizy. Otrzymano dobrą korelację dla takich rozpuszczalników jak: dioksan, aceton, pirydyna, w których główny-

mi produktami rozkładu są lumiflawina i lumichrom, natomiast inne produkty powstają w śladowych ilościach i nie wpływają na szybkość fotolizy. Sytuacja ulega zmianie, gdy w wyniku fotolizy tworzą się specyficzne dla rozpuszczalnika produkty, co ma miejsce zarówno w kwasach jednokarboksylowych, jak i alkoholach.

Przeprowadzone badania pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1) fotochemiczne oddziaływanie flawin z kwasem octowym i jego homologami prowadzi do powstania estrów octanowych tworzących się przez acetylację łańcucha bocznego oraz pochodnych hydroksylowych w pozycji C-9 i ich estrów octanowych,

2) flawiny reagują z kwasem octowym również bez udziału światła. HEF ogrzewana w kwasie octowym ulega estryfikacji w pozycji 2' łańcucha bocznego,

3) specyficzne oddziaływanie wykazują również związki flawinowe z alkoholami. Reaktywność flawin w tych rozpuszczalnikach polega na estryfikacji CMF, przejściowego produktu fotolizy ryboflawiny,

4) wpływ innych rozpuszczalników organicznych (dioksan, aceton, pirydyna, chloroform) na przebieg fotolizy związków flawinowych polega na zwiększeniu się szybkości fotolizy wraz z obniżeniem się polarności rozpuszczalników. Korelacja między ilością dostarczonego w czasie fotolizy światła i charakteryzującymi polarność rozpuszczalników wartościami „Z” stwierdzono tylko dla rozpuszczalników, w których tworzą się takie same produkty fotolizy, nie występuje ona natomiast dla rozpuszczalników oddziałujących specyficznie.

LITERATURA

1. Koziół J.: Photochem. Photobiol. 5, 55, 1966
2. Green M., Tollin G.: Photochem. Photobiol. 7, 129, 1968
3. Green M., Tollin G.: Photochem. Photobiol. 7, 145, 1968
4. Green M., Tollin G.: Photochem. Photobiol. 7, 155, 1968
5. Kok A., Peters C.F.: Z. Naturforsch. 27b, 1021, 1972
6. Kosower W.: J. Amer. Chem. Soc. 80, 3253, 1958
7. Owen E.C., West D.W.: Chem. Ind. 881, 1968
8. German J., Hais I.M.: J. Amer. Chem. Soc. 94, 1741, 1972
9. Song P. S.: Photochem. Photobiol. 5, 221, 1966
10. Szczęsna V., Koziół J.: Proc. of Intern. Meeting of Flavins and Flavoproteins, Kraków, 1977

11. Daniel J.W., Baldwin H.H.: *Methods in Cell Physiology*, (Prescott D.M. Ed.), Acad. Press, New York, 9-41, 1964
12. Daniel J.W., Eustace J.: *FEBS Letters*, 26, 327-332, 1972
13. Daniel J.W., Järlfors U.: *Tissue Cell*, 4, 405-426, 1972
14. Daniel J.W., Rusch H.P.: *J. Gen. Microbiol.*, 25, 47-59, 1961
15. Daniel J.W., Rusch H.P.: *J. Bacteriol.*, 83, 234-240, 1962
16. Denbo J.R., Miller D.M.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 55A, 5-12, 1976
17. Fergus C.L., Schein R.D.: *Mycologia*, 55, 540-548, 1963
18. Gray W.D.: *Amer. Journ. Bot.*, 25, 511-522, 1938
19. Gray W.D.: *Amer. Journ. Bot.*, 28, 212-216, 1941
20. Gray W.D.: *Mycologia*, 45, 817-824, 1953
21. Guttus E., Guttus S., Rusch H.P.: *Developmental Biology*, 3, 588-614, 1961
22. Henney H.R., Henney M.R.: *J. Gen. Microbiol.*, 53, 333-339, 1968
23. Henney H.R., Jr., Lynch T.: *J. Bacteriol.*, 99, 531-534, 1969
24. Hofmeister W.: *Die Lehre von der Pflanzenzelle. Handb. physiol. Bot.* 1. Leipzig, 1867
25. Knowles D.J.C., Carlile M.J.: *Gen. Microbiol.* 106, 17-25, 1978
26. Knowles D.J.C., Carlile M.J.: *Jour. Gen. Microbiol.*, 108, 9-15, 1978
27. Koevenig J.L.: *Amer. Midland Nat.*, 69, 373-375, 1963
28. Koevenig J.L.: *Mycologia*, 56, 170-184, 1964
29. Komnick H., Stockem W., Wohlfarth-Bottermann K.E.: *Intern. Review of Cytology*, 34, 170-249, 1973
30. Lestourgeon W.M., Rusch H.P.: *Science*, 174, 1233-1236, 1971
31. Lieth H.: *Arch. Mikrobiol.*, 24, 91-104, 1956
32. Lynch T.I., Henney H.R., Jr.: *Canad. Jour. Microbiol.*, 19, 803-810, 1973
33. Lynch T.I., Henney H.R., Jr.: *Microbios*, 10, 39-43, 1974
34. Martin G.W.: *Mycologia*, 53, 25-30, 1962
35. McManus Sister, M.A.: *Amer. Jour. Bot.*, 48, 582-588, 1961
36. McManus Sister, M.A.: *Mycologia*, 54, 78-90, 1962
37. Mohberg J., Rusch H.P.: *J. Bacteriol.*, 67, 1411-1416, 1969
38. Mohberg J., Rusch H.P.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 138, 418-432, 1970
39. Nair P., Zabka G.: *Mycopath. Mycol. Appl.*, 26, 123-128, 1965
40. Nicholls T.J.: *J. Cell Sci.*, 10, 1-14, 1972
41. Rakoczy L.: *Acta Soc. Bot. Polon.*, 31, 651-665, 1962
42. Rakoczy L.: *Acta Soc. Bot. Polon.*, 32, 393-403, 1963
43. Rakoczy L.: *Bull. Acad. Polon. Sci. ser. biol.*, 11, 559-562, 1963
44. Rakoczy L.: *Acta Soc. Bot. Polon.*, 34, 97-112, 1965
45. Rakoczy L.: *Acta Soc. Bot. Polon.*, 35, 315-324, 1966
46. Rakoczy L.: *Acta Soc. Bot. Polon.*, 36, 153-159, 1967
47. Rakoczy L.: *Acta Soc. Bot. Polon.*, 40, 483-497, 1971
48. Rakoczy L.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 86, 141-164, 1963
49. Ross I.K.: *Bull. Torrey Bot. Club*, 91, 23-31, 1964
50. Ross I.K., Sunshine L.D.: *Mycologia*, 57, 360-367, 1965
51. Rusch H.P.: *Advances in Cell Biology* (Prescott D.M., Goldstein L., Eds.), Appleton-Century-Crofts, New York, 1, 297-327, 1970
52. Sauer H.W.: *Symposia of the Society for general Microbiology, Microbial Differentiation, Great Britain*, 35, 375-405, 1973
53. Sauer H.W., Babscock K.L., Rusch H.P.: *Exptl. Cell Res.*, 57, 319-327, 1969
54. Seifriz W., Zetzmann M.: *Protoplasma*, 23, 175-179, 1935

55. Sobels J.C., van der Brugge H.F.H.: Proc. Konink Nederl. Acad. Wetens., 53, 1610-1616, 1950
56. Solis B.C.: studies on the morphology of Physarum nicaraguense Macbr. M.S. Thesis, Univ. of Iowa, Iowa City, 1962
57. Stahl E.: Bot. Zt., 38, 229, 1880
58. Straub J.: Naturwiss., 41, 219-229, 1954
59. Tso W.W., Mansour T.E.: Behavioral Biology, 14, 499-504, 1975
60. Ward J.M.: 4th Intern. Congr. Biochem., Vienna, 1958 (Nicker-son W.J., Ed.), Pergamon Press, Oxford, 33-58, 1959
61. Wohlfarth-Bottermann K.E.: Primitive Motile Systems in Cell Biology (Allen R.D., Kamiya N., Eds.), Acad. Press, New York, 79-109, 1964
62. Wohlfarth-Bottermann K.E.: Roux' Archiv Entwicklungsmech, 156, 371-403, 1965
63. Wohlfarth-Bottermann K.E.: Protoplasma, 11, 19-30, 1975
64. Wormington W.M., Weaver R.F.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 3895-3899, 1976
65. Wormington W.M., Cho C.G., Weaver R.F.: Nature, 256, 413-414, 1975

В. Щенсна

ФОТОЛИЗ РИБОФЛАВИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ В НЕВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Р е з ю м е

Исследовано химическую реактивность производных рибофлавина в возбужденном состоянии. Процессы фотоллиза исследовались на примере соединений с бикарбонатной боковой цепью, а именно 10-формил метилфлавина и 10-гидроксиэтилфлавина. Выделялись и обозначались продукты фотодегградации. Фотоллиз рибофлавина зависит от pH и степени поляризации неводной среды.

V. Szczęсна

PHOTOREACTIVITY OF RIBOFLAVINE AND ITS DERIVATIVES IN THE NONAQUEOUS MEDIUM

S u m m a r y

The chemical reactivity of riboflavine derivatives in the excited states has been investigated. Flavine having bicarbon side chain, viz. 10-formylmethylflavine and 10-hydroxyethylflavine were used as a model compounds for photolysis studies. The products of photodegradation have been isolated and identified. The riboflavine photolysis is pH and solvent polarization dependent.