



УДК 577.113.4

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА С НУКЛЕИНОВЫМИ
КИСЛОТАМИ И ИХ СТРУКТУРНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ
В ПРИСУТСТВИИ АМИНОВIII.* ОБРАЗОВАНИЕ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ 1,2-N-АДДУКТОВ 9-ЗАМЕЩЕННЫХ
ГУАНИНОВ В РЕАКЦИИ С ФОРМАЛЬДЕГИДОМ И ПЕРВИЧНЫМИ АМИНАМИ*Волков В. С., Шверенный А. М., Свердлов Е. Д.***Институт медицинской радиологии Академии медицинских наук СССР,
г. Обнинск Калужской обл.;***Институт биорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР, Москва*

Взаимодействием 9-метилгуанина с формальдегидом и метиламином с высоким выходом в кристаллическом виде получен 5-гидрокси-метил-3,7-диметил-5,6,7,8-тетрагидро[1,3,5]триазино[1,2-а]пурин-10(3H)-он (IV), строение которого установлено на основании данных ¹H-ЯМР- и УФ-спектров. В водных растворах продукт (IV) гидролизует до исходного 9-метилгуанина, тогда как в безводных средах и в твердом виде устойчив. Сравнение УФ-спектра производного (IV) со спектрами модифицированных 9-метилгуанина и гуанозина, регистрируемых в водных растворах, содержащих HCHO и первичные амины (MeNH₂, глицин, β-аланин), свидетельствует об образовании 1,2-N-циклоаддуктов (VI) в качестве основного продукта реакции в начальные сроки обработки. При длительной инкубации, по-видимому, устанавливается равновесие между соединениями (IV) и (VI). Циклоконденсация, в которой смесь HCHO и первичного амина проявляет свойства бифункционального реагента, описывается схемой реакции Манниха.

Основными продуктами взаимодействия HCHO с ДНК, РНК и их структурными компонентами являются лабильные N-гидрокси-метильные производные по имино- и аминогруппам пуринов и пиримидинов [2-7]. При длительных сроках обработки происходит образование N,N'-бисметил-еновых сшивок, стабильных в физиологических условиях [2, 8]. Есть сведения о том, что при действии HCHO на нуклеиновые кислоты может идти спонтанное метилирование аминогруппы аденина [9]. Исследования модификации нуклеиновых кислот HCHO в присутствии первичных аминов, т. е. в условиях реакции Манниха, еще больше расширяет сферу реакций, которые следует учитывать при рассмотрении механизма взаимодействия HCHO с нуклеиновыми кислотами на клеточном уровне. В частности, были описаны: ускорение расплетения двухспиральной ДНК [10-12] и модификации мономерных компонентов нуклеиновых кислот [10, 13, 14], строго специфическая реакция расщепления N-гликозидной связи в дезоксирибозильных производных аденина [15-17], модификация по гуаниновым звеньям в составе двухспиральной ДНК без ее денатурации [18].

Есть основания считать, что перечисленные реакции нуклеиновых кислот с HCHO и первичными аминами являются результатом конденсации нуклеинового основания с так называемыми моно- или диметилольными производными алифатического амина RNHCH₂OH или RN(CH₂OH)₂ с образованием оснований Манниха. В применении к нуклеиновым кислотам наиболее важными представляются следующие аспекты реакций аминометилирования гетероциклических соединений по Манниху (см. обзор [19]): возможность модификации по различным реакционным центрам гетероцикла (атомы углерода, азота и кислорода), различие продуктов аминометилирования первичными и вторичными аминами, важная роль стерических факторов при аминометилировании пер-

* Сообщение II см. [1].

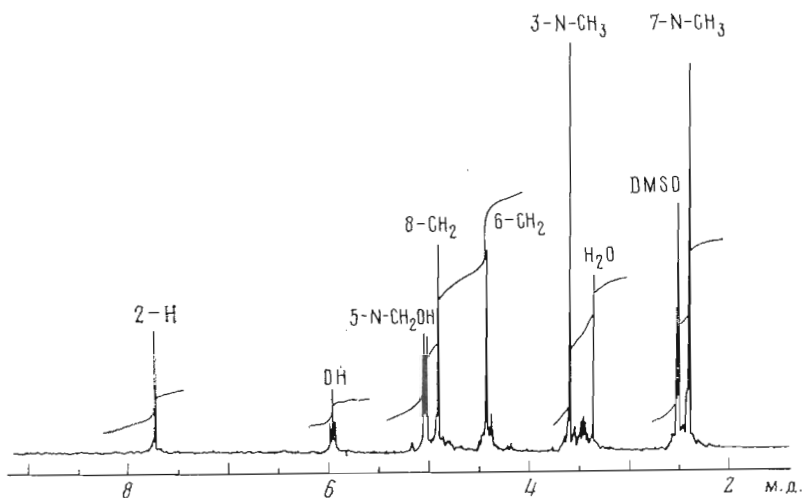


Рис. 1. Спектр ^1H -ЯМР (300 МГц) соединения (IV) в дейтеродиметилсульфоксиде

3H, 3,59 м.д.) имеются сигналы двух изолированных метиленовых групп (два синглета, 2H, 4,42 и 4,90 м.д.) и одной NCH_3 -группы (синглет, 3H, 2,40 м.д.), свидетельствующие о наличии в соединении $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$ -группировки между различными гетероатомами. Дублет (2H) при 5,04 м.д. и триплет (1H) при 5,96 м.д. говорят о существовании в этом соединении HOCH_2 -группы, связанной с гетероатомом.

Данные ^1H -ЯМР-спектра ясно указывают на отсутствие замещения по N7. Этот вывод следует из положения сигнала имидазольного протона H8 при 7,74 м.д., поскольку в 7,9-диалкилпуринах сигнал этого протона находится в гораздо более слабом поле (свыше 9,4 м.д.) [21, 22]. Отсутствие модификации по N7- и N3-атомам азота следует также из стабильности N-гликозидной связи продуктов реакции 2-дезоксигуанозина с HCHO и первичными аминами [16, 17, 20], так как известно, что алкилирование дезоксирибозильных производных гуанина и аденина по атомам азота N7 и N3 вызывает значительное ослабление гликозидных связей и уже в мягких условиях приводит к выщеплению аденина и гуанина из полинуклеотидной цепи [23].

Отсутствие модификаций по атомам азота N3 и N7 позволяет подтвердить структуру (IV) сравнением УФ-спектра выделенного соединения (рис. 2, спектр 4) со спектрами известных гуанозинов, алкилированных по имино- и аминогруппам, а также по O6-атому. Так, значительное отличие УФ-спектра полученного соединения (вода, pH 7: $\lambda_{\text{макс}}$ 260,5 нм, $\lambda_{\text{мин}}$ 230,5 нм) от спектров 6-O-алкил-2'-дезоксигуанозинов (вода, pH 7: $\lambda_{\text{макс}}$ 248 и 281 нм, $\lambda_{\text{мин}}$ 261 нм) [24] свидетельствует против алкилирования по оксогруппе. Наряду с этим замещению трех атомов водорода имино- и аминогрупп 9-метилгуанина соответствует значение $\lambda_{\text{макс}}$ 260,5 нм. Эта величина близка к ожидаемому значению $\lambda_{\text{макс}}$ для УФ-спектра 1,2-N,2-N,9-тетраалкилгуанина (~260 нм), рассчитанному нами с учетом влияния моно- и дизамещения по имино- и аминогруппам гуанозина на bathochromic сдвиг максимума поглощения в УФ-спектре. Действительно, моноалкилирование гуанозина (вода, pH 7: $\lambda_{\text{макс}}$ 252 нм) по имино- или аминогруппе приводит к смещению $\lambda_{\text{макс}}$ на 4 или 1 нм соответственно, а для 1,2-N-диалкилгуанозина смещение равно 6 нм, что на 1 нм выше аддитивного эффекта замещения. Так, УФ-спектры 2-N-метилгуанозина и 2-N-гидроксиметил-2'-дезоксигуанозина [7] характеризуются значениями $\lambda_{\text{макс}}$ 253 нм, для 1-алкилгуанозинов 256 нм, а в случае 1,2-N-диметилгуанозина [25] и трициклического 1,2-N-пропаногуанозина [26] $\lambda_{\text{макс}}$ равен 258 нм. Продолжив эту аналогию на 1,2-N,2-N-триалкилгуанозин, получаем ожидаемое значение $\lambda_{\text{макс}}$ для производного (IV) ~260 нм, что близко к экспериментальным данным.

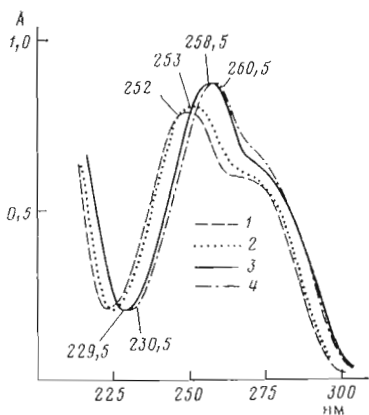


Рис. 2

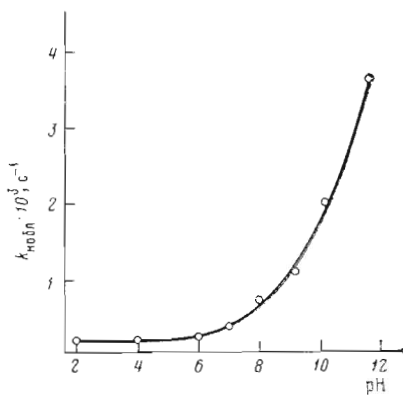


Рис. 3

Рис. 2. УФ-спектры (0,1 М натрий-фосфатный буфер, рН 7,0; 30° С) 9-метилгуанина (1); его же в 0,3 М растворе НСНО через сутки инкубации (2); его же в 0,3 М НСНО и 0,1 М MeNH₂ через 12 мин инкубации (3); выделенного продукта (4) в 0,3 М НСНО (4)

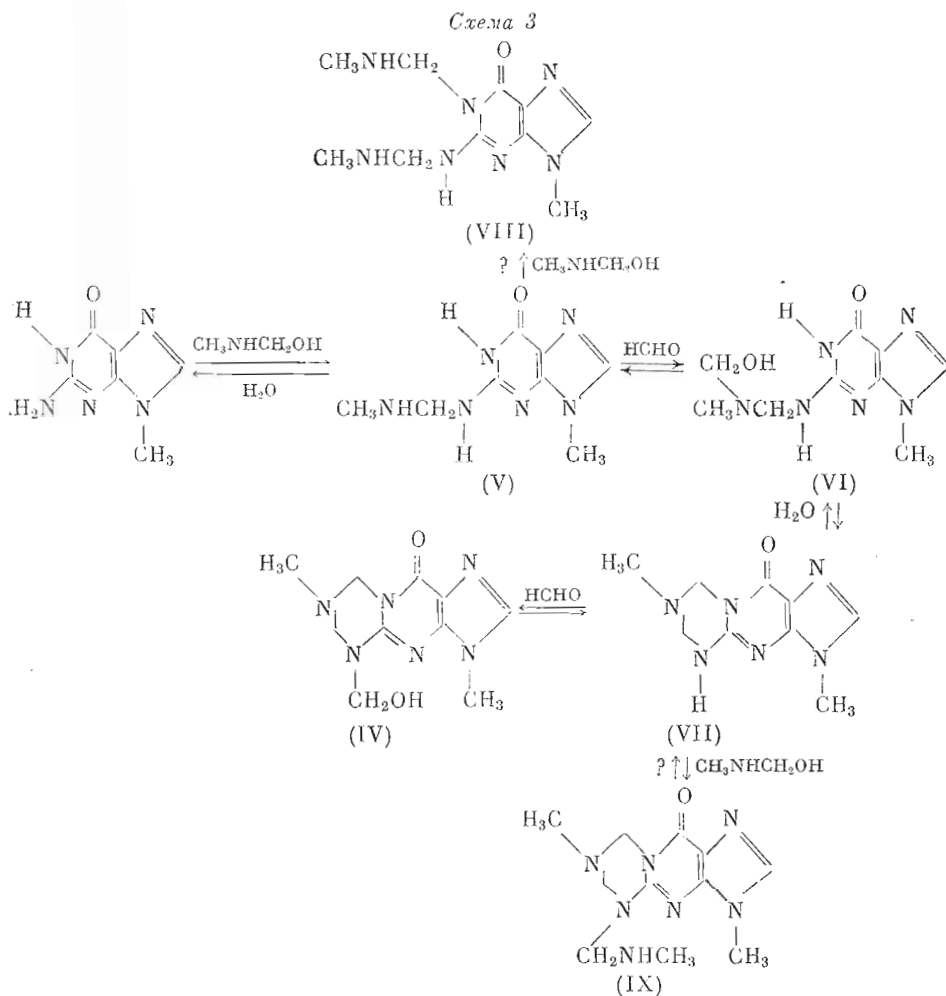
Рис. 3. Зависимость от рН наблюдаемой константы скорости гидролиза (IV) в 9-метилгуанина при 40° С в буфере: рН 2–6 – цитратный, 6–8 – фосфатный, 8–12 – карбонатный

Таким образом, данные ¹H-ЯМР- и УФ-спектров, а также отсутствие расщепления N-гликозидной связи в 2-дезоксигуанозинах в условиях реакции Манниха свидетельствуют, что строение выделенного продукта реакции 9-метилгуанина с НСНО и MeNH₂ должно быть представлено формулой (IV).

Соединение (IV) в твердом виде и его раствор в диметилсульфоксиде при хранении на холоду (–10° С) были устойчивы в течение года (срок наблюдения). В то же время в водных растворах производное (IV) довольно быстро гидролизуеться, регенерируя исходные реагенты. После полного гидролиза образование 9-метилгуанина идентифицировали по УФ-спектру при различных значениях рН, при этом количественное определение свободного НСНО в том же растворе показывает, что исчерпывающий гидролиз соединения (IV) в соответствии с установленной структурой приводит к 3 моль НСНО на 1 моль 9-метилгуанина. Представляло интерес выявить те закономерности реакции гидролиза аддукта (IV), на основании которых можно судить о механизме модификации. Сложная кинетика изменений УФ-спектра производного (IV) в ходе гидролиза свидетельствует о протекании нескольких реакций. В диапазоне рН 2–6 общая скорость гидролиза соединения (IV) незначительно зависит от концентрации ионов водорода, но при переходе от слабых к щелочным значениям рН быстро возрастает (рис. 3). Эти данные позволяют считать, что гидролиз производного (IV) идет по механизму основного катализа. В растворах, содержащих MeNH₂, гидролиз аддукта (IV) также ускоряется, но в присутствии НСНО гидролиз идет много медленнее. Так, УФ-спектр соединения (IV), растворенного в 0,1–0,3 М НСНО, сохраняется неизменным в течение нескольких часов. В MeOH продукт (IV) также устойчив в течение длительного времени, при этом регистрируемый УФ-спектр аналогичен его спектру в 0,3 М НСНО. Такой же УФ-спектр наблюдается при растворении производного (IV) в растворе НСНО с MeNH₂, т. е. в условиях модификации.

Высокая лабильность соединения (IV) в водных растворах, значительное влияние НСНО и MeNH₂ на скорость гидролиза, а также ранее проведенные исследования модификации рибозильных производных гуанина в условиях реакции Манниха (НСНО и аминокислоты) [13, 18, 27] показывают, что образование аддукта (IV) происходит в результате целого комплекса реакций. (В их число входят реакции НСНО с аминами, описываемые довольно сложной системой уравнений [27, 28]. Кроме того, ампометилирование по Манниху в зависимости от условий может

осуществляться различными продуктами взаимодействия НСНО с аминами [19, 29]. Поэтому, как и на схеме 1, ниже в качестве модифицирующего агента условно взят MeNHCH_2OH .) Наиболее вероятный путь образования соединения (IV) представлен на схеме 3.



Представленная схема суммирует принципиально две разные реакции: 1) циклоконденсацию с образованием производного (VII) по механизму реакции Манниха; 2) гидроксиметилирование аддукта (IV) с образованием соединения (IV) как результат присоединения НСНО по ароматической аминогруппе. Эти реакции должны идти в указанной последовательности, так как гидроксиметилирование аминогруппы гуанозина, как и других нуклеиновых оснований в реакции с одним НСНО [3, 7], протекает много медленнее реакций модификации при действии НСНО и первичных аминов [10–16]. Понятно, что используемые нами условия препаративного синтеза (высокие концентрации реагентов, длительность обработки) способствуют смещению равновесия всех реакций в сторону образования продукта (IV). В то же время совсем не очевидно, что именно соединение (IV) с его 5-гидроксиметильной группой, а не производное (IX), например, будет конечным продуктом модификации 9-метилгуанина при реакции с НСНО и MeNH_2 в растворе при более мягких условиях и меньших сроках обработки, которые типичны для цитируемых работ [10–16, 18, 27]. В этой связи возникают вопросы: адекватно ли последовательность $(\text{V}) \rightleftharpoons (\text{VII}) \rightleftharpoons (\text{IV})$ (схема 3) отражает общий ход модификации 9-метилгуанина в условиях реакции Манниха, и применима ли эта схема для модификации рибозильных производных гуанина, а также остатков гуанина в составе ДНК?

В связи с возникшими вопросами рассмотрим изменения УФ-спектра 9-метилгуанина, наблюдаемые при действии одного НСНО, а также в условиях реакции Манниха с диметиламином и MeNH_2 (условия см. в подпункте к рис. 2). Не обсуждая деталей, выделим самый важный результат: как при действии одного НСНО, так и смеси НСНО с Me_2NH после завершения реакций регистрируемые УФ-спектры в обоих случаях подобны и имеют одинаковое значение $\lambda_{\text{макс}}$ 253 нм, что говорит о монозамещении по аминогруппе. Замена Me_2NH на MeNH_2 в корне меняет характер модификации так, что уже через 12 мин после начала обработки регистрируется УФ-спектр с $\lambda_{\text{макс}}$ 258,5 нм и $\lambda_{\text{мин}}$ 229,5 нм (рис. 2, спектр 3), характерный для 1,2-N-дизамещенных гуанозинов [25, 26]. При дальнейшей инокубации последующие изменения параметров УФ-спектра незначительны и не достигают соответствующих значений для УФ-спектра аддукта (IV). Результирующий УФ-спектр с $\lambda_{\text{макс}}$ 259,5 нм и $\lambda_{\text{мин}}$ 230,0 нм является промежуточным между спектрами выделенного соединения (IV) ($\lambda_{\text{макс}}$ 260,5 нм, $\lambda_{\text{мин}}$ 230,5 нм) и продукта модификации, образующегося в растворе через 12 мин реакции ($\lambda_{\text{макс}}$ 258,5 нм, $\lambda_{\text{мин}}$ 229,5 нм). Так как моноалкилирование по аминогруппе гуанозина характеризуется незначительным смещением $\lambda_{\text{макс}}$ и $\lambda_{\text{мин}}$ (рассмотрено выше), различия между этими тремя спектрами в пределах 2 нм в первую очередь свидетельствуют о различной степени замещения по аминогруппе. Эти данные не противоречат ходу модификации по схеме 3. Действительно, УФ-спектр с $\lambda_{\text{макс}}$ 258,5 нм — серьезный довод в пользу образования 1,2-N-дизамещенного 9-метилгуанина, а таковыми могут быть циклоаддукт (VII) или нециклический аддукт (VIII). Однако формула (VIII) не может объяснить принципиально различную реакционную способность MeNH_2 и Me_2NH . Поэтому УФ-спектр с $\lambda_{\text{макс}}$ 258,5 нм следует трактовать в пользу образования трициклического аддукта (VII), но не соединения (VIII). Также можно считать, что производное (VII) является основным продуктом в первые 12 мин обработки, поскольку реакцией 2-N-гидроксиметилирования, идущей в тех же условиях в течение нескольких часов, за это время можно пренебречь. Последующие медленные и небольшие изменения УФ-спектра, по-видимому, связаны с замещением по аминогруппе и установлением равновесия $(\text{VII}) \rightleftharpoons (\text{IV})$. Возможно, наряду с реакцией гидроксиметилирования соединения (VII) в производное (IV) также идет аминометилирование аддукта (VII) с образованием производного (IX). Однако образование значительных количеств соединения (IX) все же менее вероятно, так как именно продукт (IV) выделен из реакционной смеси, а для реакции аминометилирования следовало бы ожидать высокую скорость реакции в пределах нескольких минут, а не многих часов, как наблюдается. В пользу реакции $(\text{IV}) \rightleftharpoons (\text{VII})$, но не $(\text{VII}) \rightleftharpoons (\text{IX})$ также свидетельствует очень медленное смещение $\lambda_{\text{макс}}$ с 260,5 до 259,5 нм, регистрируемое при растворении соединения (IV) в 0,3 М растворе НСНО, поскольку НСНО не должен препятствовать ретрореакции производного (IX) с образованием соединения (VII) со сдвигом $\lambda_{\text{макс}}$ с 260,5 до 258,5 нм. Из схемы 3 понятно, что в достаточно больших концентрациях НСНО будет подавлять ретрореакцию Манниха аддукта (VII), приводящую к исходному 9-метилгуанину или его 2-N-гидроксиметильному производному. Такой подход объясняет высокую стабильность продуктов (IV) и (VII) в растворах с концентрацией НСНО, равной 0,1–0,3 М.

Итак, изменения УФ-спектра 9-метилгуанина в ходе модификации в растворе, содержащем НСНО и MeNH_2 в концентрациях 0,3 и 0,4 М соответственно, свидетельствуют о протекании быстрой реакции циклоконденсации с образованием аддукта (VII) и последующем медленном установлении равновесия $(\text{VII}) \rightleftharpoons (\text{IV})$. Из рис. 4 следует, что заместитель при атоме азота N9 не оказывает существенного влияния на ход модификации, поскольку обработка 9-метилгуанина и гуанозина НСНО в смеси с MeNH_2 в одних и тех же условиях приводит к продуктам с очень близкими УФ-спектрами. Аналогичные УФ-спектры при сравнимых скоростях реакций были получены, когда 9-метилгуанин и гуанозин обрабатывали НСНО и аминокислотами (глицин, β -аланин, спектры не приво-

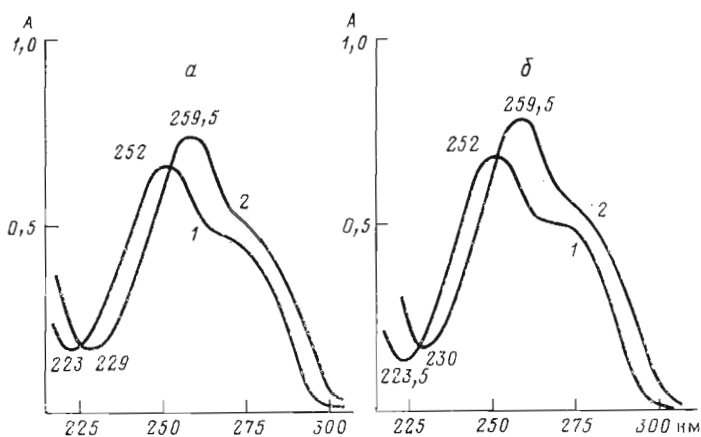


Рис. 4. УФ-спектры гуанозина (а) и 9-метилгуанина (б), регистрируемые в 0,1 М натрий-фосфатном буфере при pH 7,0 без обработки (1), в 0,3 М HCHO и 0,1 М MeNH₂ через 16 ч обработки при pH 7,0 и 30° С (2) (спектр 9-метилгуанина через 12 мин обработки в этих же условиях приведен на рис. 2, спектр 3)

дятся). Подобие УФ-спектров во всех этих случаях свидетельствует о том, что модификация 9-замещенных гуанинов при действии HCHO и первичных аминов при используемых нами концентрациях, вероятно, идет по схеме 3 с образованием циклоаддуктов (IV) и (VII). По аналогии следует ожидать, что модификация остатков гуанина в составе полинуклеотидной цепи также может идти по этой схеме. Однако последний процесс представляет собой особый случай, так как модификация полинуклеотидов связана с возрастающей ролью стерических факторов и возможным изменением направления реакций.

В заключение отметим, что представленные данные наряду с предыдущими исследованиями модификации аденина [1] и производных цитидина [20] свидетельствуют об образовании циклоаддуктов с N,N'-CH₂N(R)CH₂-мостиком как типичном направлении модификации нуклеиновых кислот при действии HCHO и RNH₂.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали 9-метилгуанин (Fluka, Швейцария), гуанозин (Calbiochem, США), 37% водный раствор HCHO, стабилизированный метанолом (Merck, ФРГ), 40% водный раствор MeNH₂, приготовленный из его хлоридрата (Союзреактив), глицин и β-аланин (Reanal, ВНР). Все реагенты использовали без дополнительной очистки. Спектры ¹H-ЯМР снимали на приборе SC 300 (Varian, США) с рабочей частотой 300 МГц, внутренний стандарт — тетраметилсилан. УФ-спектры записывали на спектрофотометрах SP 8000 или PU 8800 (Pye Unicam, Англия). Концентрацию свободного HCHO в растворе после полного гидролиза (IV) определяли реакцией Ганча с ацетилацетоном [30].

Получение 5-гидроксиметил-3,7-диметил-5,6,7,8-тетрагидро[1, 3, 5]триазино[1, 2-а]пурин-10(3H)-она (IV). К раствору 2,5 мл 37% водного раствора HCHO и 0,33 мл 40% водного раствора MeNH₂ в 7,5 мл дистиллированной воды прибавляли 75 мг 9-метилгуанина. Смесь нагревали на водяной бане при 60° С до полного растворения осадка, выдерживали при комнатной температуре в течение 2 ч, концентрировали на роторном испарителе при температуре бани 45–50° С до получения густой пастообразной массы, затем прибавляли 30 мл абсолютного этанола и снова концентрировали. Остаток несколько раз растирали с диэтиловым эфиром, гелеобразный остаток тщательно экстрагировали абсолютным этанолом. Спиртовой раствор концентрировали до объема 1,5 мл, выдерживали на холоду (–10° С) в течение 2 сут, осадок промывали небольшими количествами холодных этанола и эфира, получили 72 мг соединения (IV), выход 65%, т. пл. 140–142° С. Найдено, %: С 45,24; Н 6,06; N 32,05. C₁₀H₁₄N₆O₂·0,8H₂O. Вычислено, %: С 45,38; Н 5,95; N 31,75.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков В. С., Поверенный А. М., Свердлов Е. Д. Молекуляр. биология, 1985, т. 19, вып. 3, с. 693-702.
2. Feldman M. Yu. Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol., 1973, v. 13, p. 1-49.
3. McGhee J. P., von Hippel P. H. Biochemistry, 1975, v. 14, № 6, p. 1281-1296.
4. McGhee J. P., von Hippel P. H. Biochemistry, 1975, v. 14, № 6, p. 1297-1303.
5. McGhee J. P., von Hippel P. H. Biochemistry, 1977, v. 16, № 15, p. 3267-3276.
6. Hayatsu H., Yamashita Y., Yui S., Yamagata Y., Tomita K., Negishi K. Nucl. Acids Res., 1982, v. 10, p. 6281-6293.
7. Beland E. A., Fullerton N. F., Heflich R. H. J. Chromatogr., 1984, v. 308, p. 121-131.
8. Chaw Yu Fen W., Crane L. E., Lange P., Shapiro R. Biochemistry, 1980, v. 19, № 24, p. 5525-5531.
9. Tyihak E., Szarvas T., Trezl L. Proc. 19th Hung. Meet. Biochem. Budapest, 1979, p. 29-31.
10. Симонов В. В., Семин Ю. А., Суминов С. И., Поверенный А. М. Биохимия, 1974, т. 39, вып. 3, с. 527-532.
11. Siomin Yu. A., Simonov V. V., Poverenny A. M. Biochim. et biophys. acta, 1973, v. 331, p. 27-32.
12. Хулордава К. Г., Косаганов Ю. Н., Зарудная М. И., Лазуркин Ю. С., Семин Ю. А., Поверенный А. М. Молекуляр. биология, 1977, т. 11, вып. 4, с. 826-832.
13. Хулордава К. Г., Косаганов Ю. Н., Лазуркин Ю. С. Молекуляр. биология, 1978, т. 12, вып. 6, с. 1390-1407.
14. Семин Ю. А., Коломыйцева Е. Н., Поверенный А. М. Молекуляр. биология, 1974, т. 8, вып. 2, с. 276-285.
15. Семин Ю. А., Коломыйцева Е. Н., Поверенный А. М. Биоорган. химия, 1975, т. 1, № 3, с. 317-327.
16. Коломыйцева Е. Н., Семин Ю. А., Поверенный А. М. Молекуляр. биология, 1978, т. 12, вып. 6, с. 1231-1238.
17. Sverdlov E. D., Monastyrskaya G. S., Poverenny A. M., Siomin Yu. A., Kolomyitseva E. N. FEBS Lett., 1979, v. 108, № 2, p. 427-429.
18. Семин Ю. А., Волков В. С., Протасова Н. А., Поверенный А. М. Молекуляр. биология, 1981, т. 15, вып. 6, с. 1303-1314.
19. Trumontini M. Synthesis, 1973, p. 703-775.
20. Волков В. С., Поверенный А. М., Свердлов Е. Д. Молекуляр. биология, 1983, т. 17, вып. 6, с. 1318-1323.
21. Montgomery J. A., Hewson K., Clayton S. J., Thomas H. J. J. Org. Chem., 1966, v. 31, № 7, p. 2202-2210.
22. Fuiji T., Tanaka F., Mohry K., Itaya T., Suito T. Tetrahedron Lett., 1973, № 49, p. 4873-4876.
23. Кочетков Н. К., Будовский Э. И., Свердлов Е. Д., Симукова Н. А., Турчинский М. Ф., Шибасов В. Н. Органическая химия нуклеиновых кислот. М.: Химия, 1970, с. 495-499.
24. Farmer P. B., Foster A. B., Jarman M., Tisdale M. J. Biochem. J., 1973, v. 135, № 2, p. 203-213.
25. Yamazaki A., Kumashiro I., Takenishi T. Chem. Pharm. Bull., 1968, v. 16, № 8, p. 1561-1566.
26. Chung F.-L., Young R., Hecht S. S. Cancer Res., 1984, v. 44, p. 990-995.
27. Шенелеев В. А., Косаганов Ю. Н., Лазуркин Ю. С. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 5, с. 686-693.
28. Kallen R. G., Jencks W. P. J. Biol. Chem., 1966, v. 241, № 24, p. 5864-5878.
29. Thompson B. B. J. Pharm. Sci., 1968, v. 57, p. 715.
30. Nash T. Biochem. J., 1953, v. 55, № 3, p. 416-420.

Поступила в редакцию
19.V.1986

INTERACTION OF FORMALDEHYDE WITH NUCLEIC ACIDS AND THEIR
STRUCTURAL COMPONENTS IN THE PRESENCE OF AMINES. III. FORMATION
OF TRICYCLIC 1,2-N-ADDUCTS OF 9-SUBSTITUTED GUANINES IN THE
REACTION WITH FORMALDEHYDE AND PRIMARY AMINES

VOLKOV V. S., POVERENNY A. M., SVERDLOV E. D.*

Scientific Research Institute of Medical Radiology,
Obninsk, Kaluga Region

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow

Reaction of m⁹Gua with HCHO and MeNH₂ in aqueous solution led to crystalline 5-hydroxy-3,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydro[1,3,5]triazino[1,2-a]purine-10(3H)-one (IV) with the yield 65%; its structure have been elucidated on the basis of ¹H-NMR and UV data. Compound (IV) was stable in anhydrous solvents and in solid state, but rapidly hydro-

lyzed in aqueous solution to give the original m⁹Gua, HCHO, and MeNH₂. UV studies of neutral solution of m⁹Gua in 0,3 M HCHO and 0,1 M MeNH₂ reveals that compound (IV) is formed through two different reactions. At first, fast cyclocondensation occurs within 10–15 min yielding 1,2-N-cycloadduct (VII) with a CH₂N(CH₃)CH₂ bridge between exocyclic amino and cyclic imino groups followed by hydroxymethylation of amino group (VII). The second reaction, which is much slower (a few hours), establishes equilibrium between compounds (IV) and (VII). Interaction of m⁹Gua and Guo with another primary amines (butylamine, glycine, β-alanine) under the same conditions leads to the same UV spectra, as in the case of MeNH₂. It indicates that reaction of 9-substituted guanines with HCHO and primary amines gives products similar to (IV) and (VII). The cycloaddition, in which mixture of formaldehyde and primary amines show properties of a bifunctional reagent, may be depicted by the scheme of the Mannich reaction.