



УДК 577.113.4

© 1990 г.

*Т. П. Волощук, Ю. В. Пацковский, А. И. Хотопальский***АЛКИЛИРОВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
ПРОИЗВОДНЫМИ ЭТИЛЕНИМИНА
I. АЛКИЛИРОВАНИЕ ОСНОВАНИЙ***Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР, Киев*

При отработке условий реакций алкилирования компонентов нуклеиновых кислот изучено взаимодействие тиотэфа с соляной и хлорной кислотами. Показана целесообразность использования хлорной кислоты для повышения выхода продуктов реакции. С помощью методов обращенно-фазовой ВЭЖХ и УФ-спектроскопии выделены и идентифицированы продукты алкилирования нуклеиновых оснований этиленимином и его производными — тиотэфом и моноазирдиндиэтилфосфатом. Получены данные относительно направления реакций алкилирования и строения образующихся продуктов.

Известно, что электрофильные алкилирующие агенты обладают мутагенным и канцерогенным действием, а ди- и полифункциональные соединения могут оказывать и противоопухолевый эффект благодаря способности сшивать двойные цепи молекулы ДНК [1]. К числу таких соединений относятся производные этиленимина — тиотэф (N,N',N''-триэтиленимид тиоофосфорной кислоты), бензотэф (N-бензоил-N',N''-диэтилентриимид фосфорной кислоты), имифос (диэтиленимид 2-метилтиазолидо-3-фосфорной кислоты) и другие, до сих пор применяющиеся в клинике в качестве противоопухолевых препаратов [2, 3]. Однако наряду с противоопухолевым эффектом они имеют выраженное общетоксическое действие, вызывают лейкопению, угнетают эритропоэз [3]. Поэтому их использование в клинической практике ограничено. Более эффективными противоопухолевыми препаратами оказались продукты алкилирования тиотэфом некоторых биологически активных веществ, например алкалоидов чистотела (препарат амитозин), а также нуклеиновых кислот [4, 5]. На экспериментальных моделях перевиваемых опухолей животных (эритромиелоз Швецца, карцинома Эрлиха, рак яичников и др.) препараты алкилированных тиотэфом ДНК и РНК тормозили рост опухолей на 90—100%, тогда как эффективность тиотэфа обычно не превышала 50—55% [4], а сами нуклеиновые кислоты выраженным противоопухолевым эффектом не обладают.

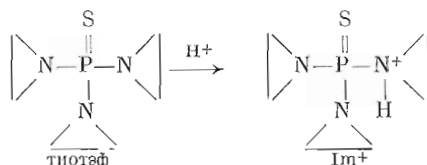
Количество работ, посвященных изучению реакций алкилирования тиотэфом и другими производными этиленимина, невелико [6—9]. В них на основе алкилирования метилированных оснований делается вывод о принципиальной возможности алкилирования всех оснований в составе ДНК [8]. С другой стороны, для нуклеотидов показано протекание реакций по фосфатной группе и не обнаружено алкилирование остатков гетероциклических оснований, за исключением гуанина в составе GMP и ДНК [9].

Нами поставлена задача более детально изучить реакции алкилирования компонентов нуклеиновых кислот производными этиленимина с целью выявления особенностей алкилирования указанными агентами, определения направления реакций и строения образующихся продуктов.

Принятые сокращения: ЭИ — этиленимин, МЭФ — моноазирдиндиэтилфосфат, офВЭЖХ — обращенно-фазовая ВЭЖХ.

Благодаря высокому значению pK_a [7, 8, 10] тиотэф способен алкилировать нуклеофильные центры даже в нейтральных средах, но выход целевых продуктов при этом незначителен [7]. Степень алкилирования существенно повышается, если реакцию проводить в присутствии донора протонов, что способствует образованию активной алкилирующей частицы — иммониевого катиона (Im^+), образуящегося в результате протонирования этилениминного (азиридинового) цикла:

Схема 1



Однако тиотэф выступает алкилирующим агентом по отношению к самим кислотам [11]. Эффективность реакций алкилирования, обусловленная стабильностью иммониевого катиона, должна находиться в обратной зависимости от нуклеофильности применяемой кислоты. Это подтвердилось в эксперименте. Так, в реакции с HCl молекула кислоты быстро присоединяется к тиотэфу, что сопровождается резким повышением pH среды (от 1,7 до 5,8 в течение 30—40 мин). В случае хлорной кислоты, анион которой занимает последнее место в ряду нуклеофильности анионов, pH среды за то же время изменяется мало (до 2,0). На пластинах сидуфола основной продукт реакции с HCl (С) идет за фронтом растворителей, продукт с $HClO_4$ (Д) имеет R_f 0,4 (рис. 1а). Из рис. 1б следует, что по подвижности продукт Д аналогичен соли $NaClO_4$ (здесь же идет и $NaCl$). Отсюда с учетом различной нуклеофильности анионов Cl^- и ClO_4^- можно сделать вывод об ионном строении продукта Д и ковалентном продукта С.

В значительно меньших количествах на хроматограмме присутствуют вещества С' и Д'. Представляется логичным предположить, что в случае HCl это нестабильная солеобразная структура Im^+Cl^- (Д'), которая, как показано выше (по изменению pH), быстро исчезает, превращаясь в продукт алкилирования HCl (продукт С, производное β -хлорэтиламина). В случае более стабильной ионной пары $Im^+ClO_4^-$ (продукт Д) ковалентно связанный продукт С' скорее всего представляет собой продукт присоединения к тиотэфу OH^- -аниона среды. Доказательством этому служит тот факт, что выход продукта С', судя по интенсивности соответствующего пятна хроматограммы, растет с увеличением времени и особенно резко после обработки смеси раствором $NaOH$. В случае KOH выпадает осадок $KClO_4$, что также свидетельствует в пользу ионного строения продукта Д.

При внесении в такие растворы какого-либо нуклеофила, например аденина, интенсивность пятна, соответствующего солевой форме, уменьшается гораздо быстрее, чем без нуклеофила, за счет протекания реакции алкилирования аденина. А поскольку доля продукта Д выше в случае применения в качестве протонодонора $HClO_4$, то и выход алкилированного аденина в этом случае также выше.

Увеличение количества кислоты приводит к раскрытию нескольких азиридиновых циклов молекулы тиотэфа: обратным титрованием в условиях 10-кратного избытка HCl установлено присоединение 3 эквивалентов кислоты. Увеличение концентрации кислоты при алкилировании может вызывать образование сшивок между алкилируемыми молекулами [1] наряду с замедлением скорости реакций за счет протонирования нуклеофила. Последнее положение можно проиллюстрировать следующим примером: если в раствор аденина вносится смесь тиотэфа с хлорной кислотой, pH среды сразу же составляет 4,3; если же последовательно вносить тиотэф, а затем кислоту, то pH среды оказывается равным 2,3, а значения 4,3 достигает спустя 2—4 ч (в зависимости от концентрации реагентов). Через сутки pH среды в обоих случаях составляет $5,0 \pm 0,2$. При этом во

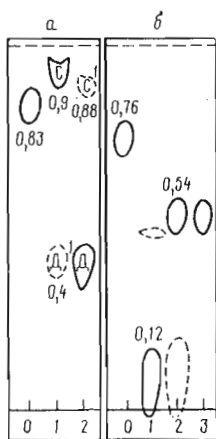


Рис. 1

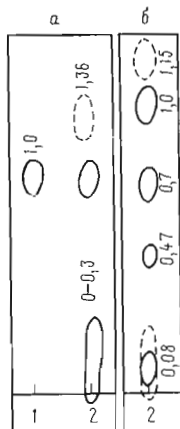


Рис. 5

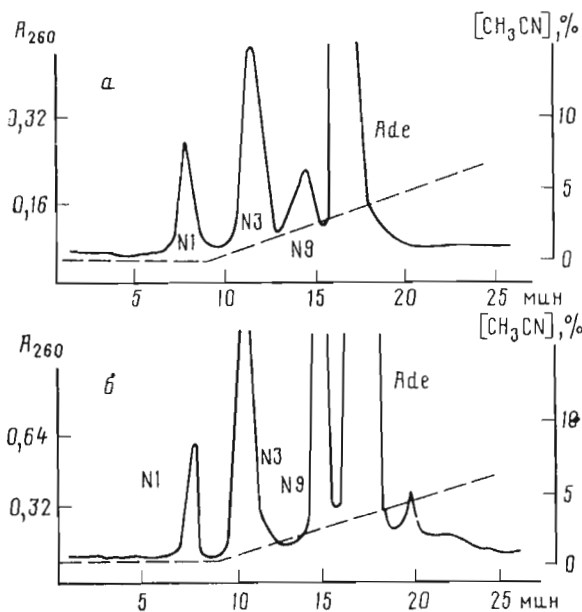


Рис. 2

Рис. 1. ТСХ на пластинах Silufol^R UV-254 в системах А (а) и В (б) продуктов взаимодействия тиотэфа с HCl (1) и HClO_4 (2). О — тиотэф, З — NaClO_4 . Цифры на хроматограмме — значения R_f . Обозначения С, С', Д и Д' см. в тексте

Рис. 2. офВЭЖХ продуктов алкилирования аденина тиотэфом в подкисленной среде действием Im^+ (а) или этилениминном (б). Условия алкилирования и разделения смесей приведены в «Экспер. части». N1, N3, N9 — места присоединения алкилирующего реагента (по данным УФ-спектров) к аденину, Ade — пик аденина

Рис. 5. Разделение в системе Б продуктов алкилирования аденина тиотэфом на бумаге Filtrak FN-12 (а) и пластинах Silufol^R UV-254 (б). 1 — аденин, 2 — продукты алкилирования. Исходный pH реакций алкилирования 7,0 (а) и 4,3 (б). Приведены подвижности соединений относительно аденина

втором варианте выход алкилированного аденина оказывается ниже. Вероятно, это объясняется тем, что в кислой среде аденин протонирован (его pK_a 4,15), и электростатические эффекты затрудняют его алкилирование протонированной формой тиотэфа (Im^+).

Раскрытие этилениминных циклов тиотэфа в водных растворах, как правило, сопровождается расщеплением амидных связей [11, 12]. Повышение температуры, как установлено нами, ускоряет не только процесс гидролиза Р—N-связей, но и вызывает (через промежуточное образование

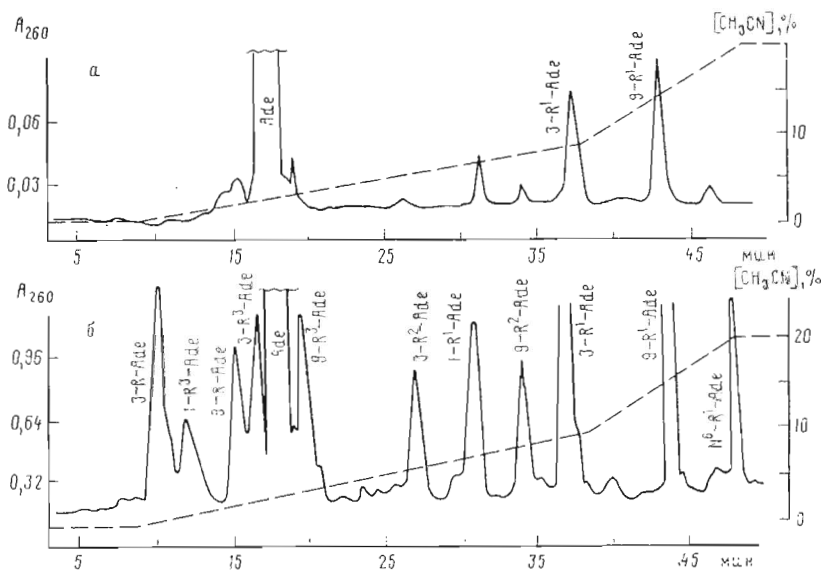


Рис. 3

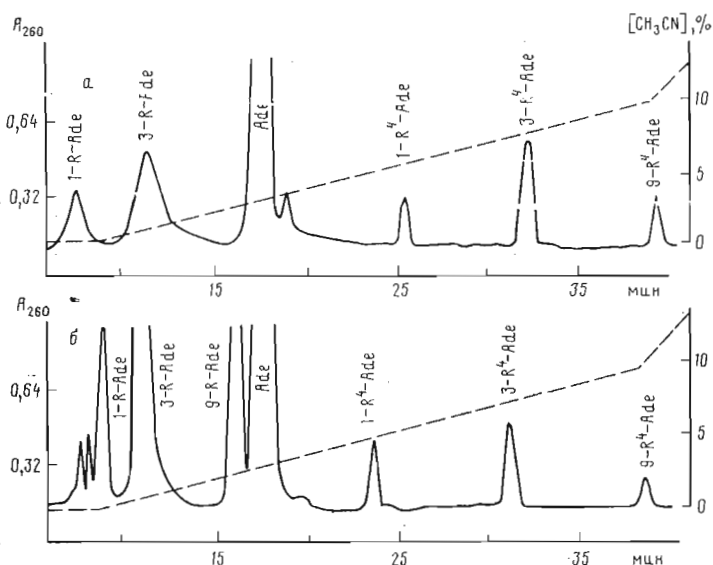


Рис. 4

Рис. 3. офВЭЖХ продуктов алкилирования аденина тиотэфом в нейтральных условиях при комнатной температуре в течение 1 сут и соотношении аденин — тиотэф — HClO_4 3 : 15 : 0,1 (а) и после 8 ч нагрева при 100°C и соотношении аденин — тиотэф — HClO_4 1 : 2 (б). Структура R и R¹⁻³ приведены в тексте

Рис. 4. офВЭЖХ продуктов алкилирования аденина моноазиридиндиэтилфосфатом при 20°C в течение 1 сут и соотношении аденин — МЭФ — HClO_4 1 : 1 : 0,1 до (а) и после кислотного (0,5 и н. HCl , 100°C , 1 ч) гидролиза (б). R⁴ — радикал (I), схема 2

меркаптопроизводных тиотэфа) отщепление серы в виде сероводорода, дающего с уксуснокислым свинцом черный осадок PbS. В результате образуется сложная смесь продуктов разложения тиотэфа, в том числе различных производных фосфорной кислоты. В литературе имеются данные об образовании и других промежуточных структур, в частности пятичленных циклов с участием кислорода и соединений, содержащих SH-группы [13, 14].

В связи со сказанным реакцией алкилирования в присутствии HClO_4 проводили при температуре не выше 37°C . При проведении реакций в нейтральных условиях выход продуктов повышали либо нагреванием до

Спектральные характеристики алкилированных аденинов, выделенных методом обращенно-фазовой ВЭЖХ *

Направление алкилирования	рН	$\lambda_{\max} - \lambda_{\min}$, нм*		рK _a [15]
		А	Б	
N1	1	263-235	262-233	7,2
	12	272-246	271-242	
N3	1	276-233	275-236	(5,1), 6,0-6,5
	12	274-245	274-245	
N9	1	259-228	258-227	4,0
	12	263-234	261-229	
N ⁶	1	272-233	272-234	3,7-4,2
	12	273-244	273-236	
Аденин	1		262,5-229	4,15
	12		269,5-237	

* А — наши данные, алкилирующие агенты — тиотэф, ЭИ, МЭФ; Б — данные обзора [15], алкилирующие агенты — азотистый и сернистый иприты, окись этилена.

100° С, либо увеличением концентрации алкилирующего агента (аденин — тиотэф, 1 : 5). Поскольку среда в последнем случае оказывалась слабо-щелочной, добавляли разбавленную HClO₄. Наиболее детально реакции алкилирования изучены нами на примере алкилирования аденина.

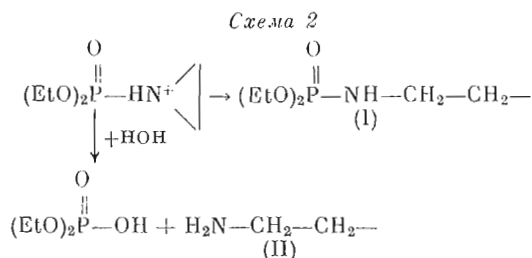
Реакционную смесь, содержащую продукты алкилирования аденина тиотэфом в присутствии HClO₄, методом оФВЭЖХ разделили на 4 фракции (рис. 2а). УФ-спектры первых трех фракций полностью идентичны охарактеризованным ранее [15] продуктам замещения аденина по положениям N1, N3 и N9 гетероцикла. Из данных обзора [15], а также табл. 1 видно, что спектральные характеристики продуктов замещения по одному и тому же положению гетероцикла не зависят от структуры алкилирующего агента (отклонения не превышают 1—2 нм), тогда как для разных центров алкилирования такая зависимость наблюдается, причем отклонения могут составлять 10 нм и более. Примечательно, что выделенные продукты элюируются с колонки в последовательности, коррелирующей с их рK_a (табл. 1). При алкилировании аденина в нейтральных условиях замещенные основания элюируются с колонки после аденина, несмотря на то, что спектры поглощения свидетельствуют о том же направлении алкилирования — N1, N3 и N9 (рис. 3а).

Чтобы понять причину различий в хроматографическом поведении продуктов алкилирования аденина при разных рН среды, мы провели реакцию с использованием этиленмина и моноазириндиэтилфосфата. В отличие от тиотэфа эти соединения являются монофункциональными алкилирующими агентами, что облегчает интерпретацию результатов, а МЭФ, кроме того, подобно тиотэфу имеет одну способную гидролизироваться амидную связь.

Как видно из рис. 2, хроматограммы смесей после алкилирования аденина тиотэфом (в присутствии HClO₄) и этиленмином (в отсутствие HClO₄) оказались сходными. В случае алкилирования моноазириндиэтилфосфатом (рис. 4а) получено по два типа продуктов с одинаковыми спектральными характеристиками, отвечающими алкилированию по N1-, N3-, N9-положениям, но разным временем удерживания — меньшим и большим, чем у аденина. В отличие от алкилирования этиленмином и тиотэфом здесь не обнаружен один из продуктов замещения по N9, но он появляется после кислотного (или щелочного) гидролиза этой смеси (рис. 4б).

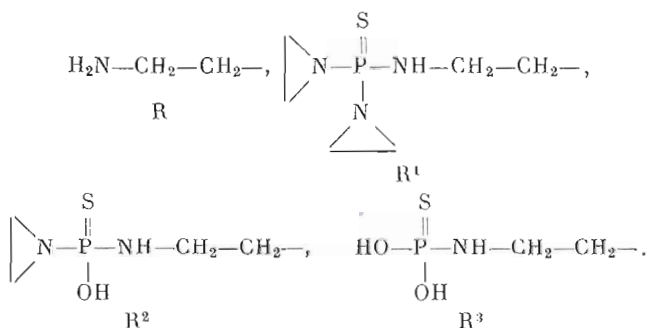
Исходя из полученных данных и строения молекулы МЭФ и учитывая условия реакции (присутствие небольших количеств кислоты), можно предположить, что алкилирование осуществляется двумя типами алкильных радикалов: фосфаминоэтильным, образующимся в результате размы-

кания протонированного азиридинового цикла, и аминоэтильным, образующимся в результате гидролиза амидной связи с размыканием цикла



Амидная связь может расщепляться как во время реакции алкилирования, так и в процессе хранения алкилированной смеси. Радикал (I), очевидно, придает продукту гидрофобные свойства, а (II), наоборот, гидрофильные (наряду с увеличением основности), чем и объясняется их выход до или после аденина. Этим объясняются и различия в хроматографическом поведении продуктов, полученных в разных условиях алкилирования. При алкилировании в слабокислых средах (с участием Im^+) в результате гидролиза амидных связей образуются преимущественно продукты аминоэтилирования (на рис. 3—4 продукты с радикалом R), тогда как в нейтральных средах — продукты фосфаминоэтилирования.

Для тиотэфа, имеющего три фосфамидные связи, по аналогии можно предположить четыре типа алкильных радикалов и соответственно четыре типа продуктов алкилирования по одному и тому же положению в результате последовательного расщепления трех амидных связей. В наиболее простом варианте строение радикалов должно иметь вид:



Такое предположение хорошо объясняет результаты разделения продуктов алкилирования аденина тиотэфом при кипячении (рис. 3б). Здесь получены четыре продукта со спектральными характеристиками 3- и 9-замещенных аденинов. Отнесение пиков на хроматограмме к соединениям с разными алкилирующими радикалами осуществляли путем их сравнения с соответствующими пиками на рис. 3а, радикалы которых определены выше (R и R¹), и учета уменьшения гидрофобности продуктов по мере гидролиза из амидных связей (R² и R³, схема 3). Последним с колонки элюируется продукт алкилирования аденина по экзоциклической аминогруппе. Прямое алкилирование экзоциклической аминогруппы электрофильными агентами протекает крайне редко и в незначительных количествах [15]. N⁶-Производные, как правило, образуются из 1-замещенных соединений в результате перегруппировки Димрота, протекающей уже при сравнительно невысоких значениях pH (8—9) и даже в нейтральных средах [16, 17]. Этим объясняется отсутствие 1-аминоэтиладенина на рис. 3б. Образовавшийся из него продукт замещения по положению N⁶ элюируется, по-видимому, вместе с аденином, поскольку их pK_a близки (табл. 1). При проведении реакции в подкисленных средах, где нет условий для протекания перегруппировки, выход 1-замещенных аденинов достигает 20% от суммы продуктов алкилирования (рис. 2а).

Кроме продуктов, выделенных с помощью ВЭЖХ, методами бумажной и тонкослойной хроматографии выделен минорный продукт, обнаружить

который удалось благодаря избытку нанесенной на хроматограмму исследуемой смеси в условиях, когда остальные алкилированные компоненты смеси не разделились (рис. 5а, продукт с R_f 1,36). При использовании методов БХ и ТСХ большая часть продуктов алкилирования в нейтральной среде остается у старта (R_f 0—0,3). Как показал анализ результатов, полученных для разных условий алкилирования и разделения, в основном это продукты алкилирования без расщепления Р—N-связей тиотэфа, тогда как подвижные продукты — продукты аминоэтилирования и их выход увеличивается с уменьшением рН среды при алкилировании (рис. 5б). Идентификацию продуктов алкилирования осуществляли путем измерения их спектров поглощения и других спектральных характеристик (соотношения A_{280}/A_{260} , изобсорбционных точек), а также учета корреляции их хроматографической подвижности с pK_a соответствующих, охарактеризованных ранее [15, 17] алкиладенинов. Минорный продукт с R_f 1,36 (БХ) и 1,15 (ТСХ) оказался аналогичным 7-алкиладенину (pK_a 3,6). Относительно продукта замещения по N9 отмечено, что, будучи в смеси с аденином, он на пластинах силуфола не отделяется от него, тогда как в смеси алкилированных аденинов (после отделения их от аденина на сефадексе G-10) в системе А опережает, а в системе Б отстает от аденина (табл. 2).

Спектральные характеристики аденина, алкилированного по экзоциклической аминогруппе N⁶ и выделенного методами БХ и ТСХ, несколько отличаются от характеристик продукта, выделенного методом ВЭЖХ (ср. табл. 1 и 2). Вместе с тем и тот и другой продукты имеют аналоги в литературе [15]. Так, для N⁶-(2-гидроксиэтил)аденина приводятся спектры поглощения, аналогичные полученным нами для аденина, алкилированного нерасщепленной молекулой тиотэфа (N⁶-R¹-Ade), тогда как спектры N⁶-Me(или Et)аденинов соответствуют N⁶-аминоэтиладенину, выделенному на пластинах силуфола. Очевидно, N⁶-положение в аденине единственное, когда спектры определяются не только положением, по которому идет реакция, но и строением алкилирующей частицы.

Таким образом, алкилирование аденина этиленимином и его производными протекает, как и при алкилировании другими электрофильными агентами, по положениям N9, N3 и N1 (с перегруппировкой в N⁶) и, в незначительной мере, по N7 гетероцикла. Но в отличие от реакций с обычными алкилирующими агентами (диалкилсульфаты, галоидные алкилы, окиси алкиленов и др.) реакции с производными этиленимина и фосфорной кислоты имеют свои особенности. Так, в нейтральных условиях алкилирование осуществляется преимущественно нерасщепленной молекулой алкилирующего агента, тогда как в подкисленных средах, а также при длительном хранении алкилированных смесей образуются продукты, содержащие алкильные радикалы различной степени гидролиза амидных связей фосфорного компонента агента.

Аналогично протекает алкилирование производными этиленимина и других гетероциклических оснований. Гуанин алкилируется в основном по положениям N9 и N7 и в меньшей мере по положению N1. Как и в случае аденина, спектры поглощения алкилпроизводных гуанина в ультрафиолете оказались практически одинаковыми для всех алкилирующих агентов (ЭИ, МЭФ, тиотэф). Пиримидиновые основания алкилируются значительно медленнее и с очень небольшим выходом (до 1%) в основном по положению N3, а цитозин — еще и по N⁴ (табл. 3).

Экспериментальная часть

В работе использованы нуклеотидные основания фирм Chemapol (ЧССР) и Reanal (Венгрия). Алкилирующие агенты — тиотэф и моноазиридиндиэтилфосфат — получены по методикам [10, 18]. Этиленимин отечественного производства применяли после перегонки и хранения над NaOH. Продукты взаимодействия тиотэфа с HCl и HClO₄ обнаруживали путем опрыскивания хроматограмм проявляющим реагентом на серу [19], рН среды измеряли на иономере универсальном ЭВ-74, УФ-спектры — на приборе Specord UV-VIS (Karl Zeiss, ГДР). Алкилированные смеси раз-

Спектральные характеристики алкилированных аденинов, выделенных методом ТСХ

Направление алкилирования	pH	$\lambda_{\max} - \lambda_{\min}$, нм	R_f в системе		A_{286}/A_{280} (выделены в системе Б)
			А	Б	
N3(R ¹) *	1	275-236	0,6-0,7	0,08	1,3
	12	273-244			1,3
N ⁶	1	267-233	(0,9) **	(0,47)	(0,9)
	12	273(280)-245			(1,1)
N3(R) *	1	275-238	1,45	0,7	0,87
	12	273-247			0,85
N9	1	258-231	1,16	0,85	0,23
	12	261-233			0,16
Аденин	1	262,5-228	1,0	1,0	-
	12	269,5-237			-
N7	1	272-235	-	1,15	-
	12	170-244			-

* N3(R¹) и N3(R) — фосфаминоэтил- и аминоэтиладенин соответственно.

** Величины в скобках, вероятно, принадлежат N1-замещенным аденинам, во время разделения в щелочной системе перешедшим в N²-производные (при повторном элюировании их $R_f = R_f^{Ade}$).

Таблица 3

Спектральные характеристики продуктов алкилирования тиазэфом гуанина, урацила и цитозина

А — данные настоящей работы, Б — из работы [15]

Направление алкилирования	pH	$\lambda_{\max} - \lambda_{\min}$, нм	
		А	Б
Гуанин			
N1	1	253(272)-233	251(274)-229
	12	277(261)-246	278(260)-243
N7	1	252(272)-232	249(272)-233
	12	283-257	280-258
N7 *	1	262-230	262-221
	12	260-248	261-243
N9	1	253(277)-231	251(276)-
	12	256(269)-241	(258)268-
Урацил			
N3	1	262-235	259-230
	12	281,5-248	218, 283-245
Цитозин			
N3	1	277-246	275-242
	12	297-258	294-254
N ⁴	1	280-248	277-244
	12	289-259	284-253

* С расщеплением имидазольного кольца.

деляли с помощью системы ВЭЖХ фирмы Bio-Rad (США) с проточным УФ-детектором типа UV monitor, model 1306, той же фирмы. Хроматографию продуктов алкилирования оснований проводили в режиме обращенно-фазовой ВЭЖХ на колонке (4 × 150 мм) Bio-Sil ODS-5S (Bio-Rad, США) при скорости элюирования 0,7 мл/мин в градиенте концентраций ацетонитрила 0—20% на 0,5 М натрий-фосфатном буфере, pH 7,0.

Для разделения продуктов алкилирования использовали бумагу Filt-rak FN-12 (ГДР), пластины Silulof[®] UV-254 (ЧССР), а также системы рас-

творителей: метанол — аммиак (25%) — вода, 5 : 1 : 4 (А), изопропанол — аммиак (25%) — вода, 7 : 1 : 2 (Б), *n*-бутанол — этанол — вода, 50 : 16 : 34 (В).

Взаимодействие тиотэфа с HCl и HClO₄. К 19 мг (0,1 ммоль) тиотэфа в 3 мл воды приливали 1 мл 0,1 н. HCl или HClO₄. Данные по изменению рН и хроматографический анализ смесей приведены в тексте. Обнаружение веществ проводили в парах иода.

Алкилирование оснований: а) в слабокислых средах. К 13,5 мг (0,1 ммоль) аденина, растворенного при нагревании в 3 мл воды, приливали свежеприготовленный раствор, полученный смешиванием 19 мг (0,1 ммоль) тиотэфа и 17,4 мкл (0,1 ммоль) HClO₄, растворенных в 1 мл воды каждый. Смесью перемешивали 3 ч при 20° С, выдерживали 18 ч при 37° С. После концентрирования раствора при 35—40° С в вакууме водоструйного насоса смесь анализировали, нанося на колонку аликвоту, содержащую 0,2—0,4 мг в пересчете на аденин;

б) в нейтральных условиях. Смешивали 0,1 ммоль основания, растворенного в 4—6 мл воды, и 0,5 ммоль алкилирующего агента, доводили рН среды до 7,0 разбавленной (1 : 200) 5,74 н. HClO₄ и оставляли при 37° С на 24 ч, после чего анализировали, как указано выше, предварительно экстрагировав смесь эфиром;

в) в отсутствие HClO₄, рН \cong 8 (тиотэф) и рН \cong 9,5—10 (ЭИ). Смесью, содержащую 100 мг аденина и 300 мг тиотэфа в 10 мл воды, нагревали 8—10 ч при 100° С с обратным холодильником. После охлаждения, фильтрования и экстрагирования эфиром смесь анализировали.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lawley P. D., Brookes P. // *Biochem. J.* 1963. V. 89. № 1. P. 127—138.
2. Гиллер С. А., Лудак М. Ю., Лукевич Э. Я. // *Химиотерапия злокачественных опухолей* / Ред. Блохин Н. Н. М.: Медицина, 1977. С. 10—60.
3. Родионов И. В., Сологуб Н. Я. Противопухольный препарат БЕНЗОТЭФ. Киев: Внща школа, 1973. 174 с.
4. Швед А. Д., Соломко А. П., Потопальский А. И., Ивасюк С. В., Грищенко А. М., Александров Ю. Н., Ткачук З. Ю., Цегельский А. А., Крылова Э. Л., Ткачук Л. В., Семерникова Л. И., // *Молекуляр. биология*. 1980. Вып. 26. С. 64—78.
5. Потопальский А. И., Петличная Л. И., Ивасюк С. В., Модификация алкалоида берберина. Киев: Наукова думка, 1982. 110 с.
6. Nemtinki K. // *Chem.-Biol. Inter.* 1984. V. 48. № 3. P. 249—260.
7. Серебряный А. М., Андриевский Г. В., Беккер А. Р., Сибельдина Л. А., Шарова О. Л. // *Биоорган. химия*. 1987. Т. 13. № 6. С. 786—792.
8. Суходуб Л. Ф., Шелковский В. С., Косевич М. В., Пятигорская Т. Л., Жилкова О. Ю. // *Докл. АН СССР*. 1985. Т. 283. № 3. С. 714—716.
9. Серебряный А. М., Андриевский Г. В., Беккер А. Р., Сибельдина Л. А., Поволоцкая М. И. // *Биоорган. химия*. 1986. Т. 12. № 4. С. 499—506.
10. Лудак М. Ю., Гиллер С. А., Медне А. Я. ТиотЭФА. Рига: Изд. АН ЛатвССР, 1961. С. 5—8.
11. Костюковский Я. Л., Славачевская П. М., Семенова Г. К. // *Журн. общей химии*. 1975. Т. 45. Вып. 11. С. 2396—2400.
12. Пятигорская Т. Л., Жилкова О. Ю., Шелковский В. С., Косевич М. В., Гризодуб А. И., Троян В. Н., Суходуб Л. Ф. // *Хим.-фармацевт. журн.* 1985. № 10. С. 1235—1241.
13. Вернин Б. И., Янсон И. К., Суходуб Л. Ф., Теплицкий А. Б. Взаимодействие биомолекул. Новые экспериментальные подходы и методы. Киев: Наукова думка, 1985.
14. Zon G., Egan W., Stokes I. B. // *Biochem. Pharmacol.* 1968. V. 17. № 1. P. 992—998.
15. Singer B. // *Progr. in Nucl. Acides Res. and Mol. Biol.* V. 15 / Ed. Cohn. W. E. N. Y.: Acad. Press, 1975. P. 219—280.
16. Органическая химия нуклеиновых кислот / Ред. Кочетков Н. К., Будовский Э. И. М.: Химия, 1970. 720 с.
17. Price Ch. C., Gaucher M., Koneru P., Shibakawa R., Sowa J. R., Yamaguchi M. // *Biochim. et biophys. acta.* 1968. № 166. P. 327—359.
18. Гречкин Н. П. // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1956. № 5. С. 538—543.
19. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам / Ред. Микен О. М.: Мир, 1982. С. 548.

Поступила в редакцию
15.III.1989

После доработки
1.VIII.1989

T. P. VOLOSHCHUK, Yu. V. PATSKOVSKY, A. I. POTOPAISKY
ALKYLATION OF NUCLEIC ACID COMPONENTS BY ETHYLENIMINE
DERIVATIVES. I. ALKYLATION OF BASES

*Institute of Molecular Biology and Genetics, Academy of Sciences
of the UkrSSR, Kiev*

In the course of investigating the reaction conditions of the nucleic acid components alkylation, the interaction of thioTEPA (N,N',N''-triethylenethiophosphoamide) with hydrochloric and perchloric acids was studied, perchloric acid increasing the alkylation products yield. HPLC and UV spectroscopy were used to isolate and identify products of nucleic bases alkylation by ethylenimine and its derivatives (thioTEPA and monoaziridinediethylphosphate). It is shown that under neutral conditions phosphoaminoethylation takes place, whereas under slightly acidic conditions products of aminoethylation are formed.