



УДК 547.854.1'18.057

© 1990 г.

А. Р. Хомутов*, Д. Ю. Яковлев, Р. М. Хомутов

НОВАЯ РЕАКЦИЯ 2,4-ДИОКСОПИРИМИДИНОВ

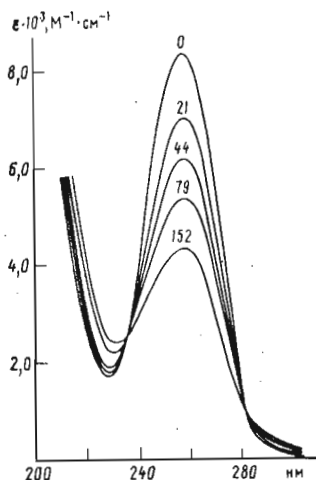
Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта АН СССР, Москва;

* Институт биохимии им. А. Н. Баха АН СССР, Москва

Методы химической модификации оснований имеют широкое распространение в исследовании структуры и функций нуклеиновых кислот. Наиболее изученными для пиримидиновых компонентов нуклеиновых кислот являются реакции с бисульфитом натрия [1], гидросиламинами [2], окисление C_5-C_6 -двойной связи четырехокисью осмия [3]. Нами обнаружена новая реакция, которая может быть использована для специфической модификации урацила и тимина в составе нуклеиновых кислот.

При действии водных растворов фосфорноватистой кислоты или ее солей на 2,4-диоксопиримидины наблюдается изменение УФ-спектра реакционной смеси (рисунок), характерное для насыщения двойной C_5-C_6 -связи. Реакция протекает с достаточной скоростью в относительно разбавленных растворах фосфорноватистой кислоты (не более 1 М) в широком диапазоне pH и температур. Константа скорости реакции псевдопервого порядка зависит от температуры и для реакции уридина с 1 М раствором гипофосфита натрия (pH 5,5) составляет при 4° С $5,2 \cdot 10^{-3} \text{ ч}^{-1}$, при 20° С $1,24 \cdot 10^{-2}$ и при 37° С $2,05 \cdot 10^{-2} \text{ ч}^{-1}$. Константы скорости реакции при pH 1 и 12 на порядок ниже, чем при pH 5–7.

Реакция достаточно специфична по отношению к 2,4-диоксопиримидиновым производным. Константа скорости реакции при 37° С в 1 М растворе гипофосфита натрия (pH 5) составляет для 1,3-диметилурацила $2,2 \cdot 10^{-2} \text{ ч}^{-1}$, для тимина $7,4 \cdot 10^{-3}$, для урацила $3,7 \cdot 10^{-3}$, для тимидина $7,8 \cdot 10^{-3}$, для уридина $2,1 \cdot 10^{-2} \text{ ч}^{-1}$. Производные цитозина реагируют на порядок медленнее, а пурины практически не вступают в реакцию с гипофосфитом натрия. Скорость реакции имеет четко выраженную концентрационную зависимость и при концентрациях гипофосфита натрия менее 0,1 М трудно определяется экспериментально. Можно предположить участие в реакции таутомерной формы фосфорноватистой кислоты с трех-



Изменение УФ-спектра реакционной смеси 10^{-3} М раствора урацила в 1 М растворе гипофосфита натрия (pH 5,0) при 37° С. Цифры над кривыми — время реакции в часах

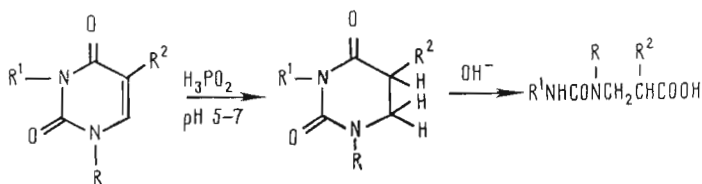
координированным атомом фосфора $\text{HP}(\text{OH})_2$, концентрация которой в нейтральном водном растворе невелика [4].

УФ-спектр реакционной смеси не восстанавливается при действии щелочей, что характерно для продуктов реакции 2,4-диоксопиримидинов с бисульфитом натрия [4]. Продукты реакции устойчивы к действию кислот, а при действии щелочей наблюдается появление и быстрое исчезновение в УФ-спектре реакционной смеси максимума с длиной волны 230 нм. В 0,1 М растворе NaOH константа скорости реакции составляет $7,0 \cdot 10^{-2} \text{ мин}^{-1}$ для продукта реакции тимина и $5,3 \cdot 10^{-2} \text{ мин}^{-1}$ для продукта реакции UMP, что характерно для реакции расщепления в щелочной среде дигидропиримидинового цикла по связи N_3-C_4 [5, 6]. Действительно, аналогичные изменения УФ-спектра наблюдаются для дигидропиримидиновых производных, полученных при УФ-облучении (254 нм) пиримидинов в 1 М растворе NaBH_4 по методу [7].

Продукты реакции были выделены хроматографией на DEAE-целлюлозе в градиенте (0–0,2 М) триэтиламмоний-бикарбонатного буфера и ТСХ на силифоле в системе изопропанол – конц. аммиак – вода (7 : 1 : 2) и охарактеризованы ПМР-спектрами в D_2O (спектрометр Varian, США, 100 МГц).

При реакции урацила с гипофосфитом натрия образуются: дигидроурацил – ^1H -ЯМР-спектр (D_2O , δ , м.д.): 3,45 т (1 H, H6), 2,66 т (1 H, H5, $J_{\text{H},\text{H}}$ 6,5 Гц); уреидопропионовая кислота – ^1H -ЯМР-спектр (D_2O , δ , м.д.): 3,26 т (1 H, H_α), 2,35 т (2 H, H_β , $J_{\text{H},\text{H}}$ 6,5 Гц); урацил-5-фосфонистая кислота – ^1H -ЯМР-спектр (D_2O , δ , м.д.): 7,67 д (1 H, H6, $J_{\text{H},\text{H}}$ 11 Гц) и 7,22 д (1 H, HPC, $J_{\text{H},\text{P}}$ 550 Гц).

Схема реакции фосфориноватистой кислоты и ее солей с 2,4-диоксопиримидинами может быть представлена следующим образом:



где $R=\text{H}$, CH_3 , β -D-рибофуранозил, β -D-рибофуранозил-5'-фосфат, 2'-дезоксид- β -D-рибофуранозил; $\text{R}^1=\text{H}$, CH_3 , $\text{R}^2=\text{H}$, CH_3 , Br, HOCH_2 , HO.

Основной продукт реакции – дигидроурацил в присутствии избытка гипофосфита натрия претерпевает при нейтральных pH дальнейшее превращение в уреидопропионовую кислоту, связанное с раскрытием пиримидинового цикла по связи N_3-C_4 , что было доказано действием гипофосфита на заведомый образец дигидроурацила. Необычным в реакции восстановления двойной C_5-C_6 -связи явился то, что в случае урацила и его N_1 - и N_3 -замещенных производных образуются, как правило, и урацил-5-фосфонистые кислоты в количествах около 5%.

Обнаруженная реакция специфического восстановления урацила, тимина и их производных дополняет уже известные методы модификации пиримидинов и может наряду с ними найти применение в химии нуклеиновых кислот и их компонентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hayatsu H. // Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology. V. 16/Ed. Cohn W. E. N. Y.: Acad. Press, 1976. P. 75–124.
2. Budowsky E. I. // Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology. V. 16/Ed. Cohn W. E. N. Y.: Acad. Press, 1976. P. 125–128.
3. Burton K., Riley W. T. // Biochem. J. 1966. V. 98. № 1. P. 70–77.
4. Романова Н. В., Демиденко Н. В. // Успехи химии. 1975. Т. 44. № 12. С. 2150–2170.
5. Sander E. G. // J. Amer. Chem. Soc. 1969. V. 91. № 13. P. 3629–3634.
6. Janion C., Shugar D. // Acta biochim. polon. 1960. V. 7. № 2–3. P. 309–329.
7. Cerutti P., Kondo Y., Landis W. R., Witkop B. // J. Amer. Chem. Soc. 1968. V. 90. № 3. P. 771–775.

Поступило в редакцию
11.VIII.1989

A NEW REACTION OF 2,4-DIKETOPYRIMIDINES

*V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow;*

** A. N. Bakh Institute of Biochemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow*

Within a wide pH ranges phosphonous acid selectively modifies 2,4-diketopyrimidines (but not cytidine or purines) by reducing C-5 – C-6 double bond. Possible applications of this reaction to the nucleic acids investigation are discussed.