



УДК 577.113.4

© 1993 Т. П. Волощук, Ю. В. Пацковский,
А. И. Потопальский

АЛКИЛИРОВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ЭТИЛЕНИМИНОМ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫМИ 2.* АЛКИЛИРОВАНИЕ НУКЛЕОЗИДОВ

Институт молекулярной биологии и генетики АН Украины, Киев

Изучены реакции алкилирования нуклеозидов этиленимином, триэтилентиофосфамидом и моноазиридиндиэтилфосфатом. Показано, что аденозин модифицируется преимущественно по положениям N1, N6 и в меньшей степени по N7 гетероцикла, а при реакциях алкилирования этиленимином в небольшом количестве обнаружен также продукт замещения по N3. В гуанозине главным центром алкилирования выступает положение N7 и в значительно меньшей мере N1. Цитидин модифицируется преимущественно по N3 и незначительно по N4. Алкилирования тимидина в тех же условиях не обнаружено.

Данная работа — продолжение наших исследований по алкилированию компонентов нуклеиновых кислот. Предыдущее сообщение было посвящено соответствующим реакциям свободных нуклеиновых оснований [1].

К настоящему времени алкилирование нуклеозидов этиленимином и его производными исследовано недостаточно. В большинстве опубликованных работ изучались гуанозин и дезоксигуанозин, которые, как оказалось, модифицируются исключительно в положение 7 гетероцикла [2, 3].

Ранее мы уже изучали алкилирование нуклеозидов [4], но только с целью получения заведомых образцов для идентификации продуктов алкилирования полинуклеотидов. Эта работа носила, следовательно, сугубо прикладной характер. Хотя при алкилировании аденозина и были получены результаты, несколько отличающиеся от описанных в литературе [5], мы их подробно не обсуждали [4]. Поскольку к тому же алкилирование аденозина протекает сложнее, чем аналогичные реакции других нуклеотидов, здесь ему будет уделено основное внимание.

Первоначально реакцию аденозина с тиотэфом (триэтилентиофосфамидом) мы проводили в присутствии хлористого водорода, который выступал в качестве протонодонора, инициировавшего образование активного алкилирующего интермедиата — иммониевого катиона [1]. Изучение реакционной смеси методом полевой десорбции на масс-спектрометре, дополнительно модифицированном таким образом, чтобы исключить всякую возможность фрагментации образующихся протонированных молекулярных ионов или молекулярных ион-радикалов, выявило ионы с m/z 530, 494, 457, 407, 348, 333, 311, 300, 267, 262, 252, 215, 189 и 179. При этом число таких ионов примерно соответствовало количеству фракций, обнаруженных при ВЭЖХ той же реакционной смеси (см. рис. 1).

На основании массовых чисел наблюдавшихся ионов мы пришли к выводу, что в ходе реакции наряду с алкилированием гетероцикла протекают про-

* Сообщение 1 см. [1]. Сокращения: тиотэф — триэтилентиофосфамид, МЭФ — моноэтилениминдиэтилфосфат (моноазиридиндиэтилфосфат).

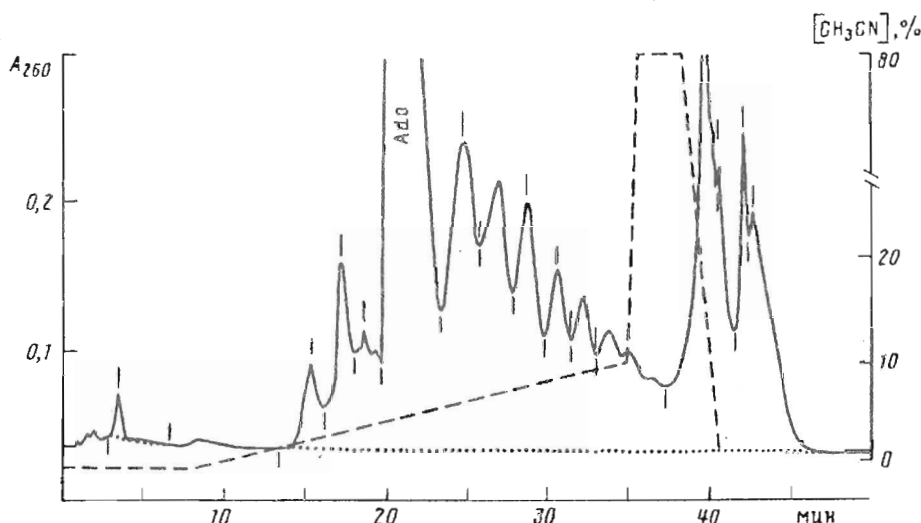
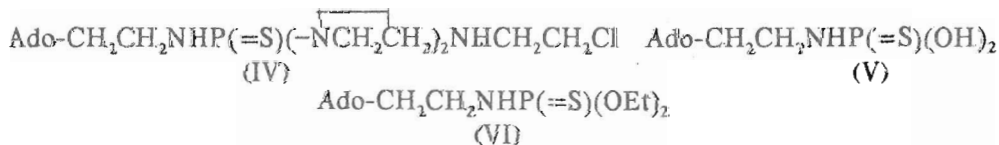
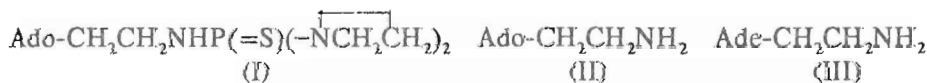


Рис. 1. ВЭЖХ продуктов алкилирования аденозина тиотэфом в присутствии HCl. Штриховой линией обозначен заданный (не фактический) градиент ацетонитрила

цессы гидролиза фосфамидных связей, присоединения хлористого водорода к азиридиновым циклам, а также гидролиза гликозидной связи, ослабленной алкилированием ядра нуклеозида и присутствием HCl (ср. [6]). Так, мы полагаем, что ион с массовым числом 457 соответствует протонированной молекуле фосфаминоэтиладенозина (I), ион с m/z 311 — ион-радикалу аминоэтилированного аденозина (II), а ион с m/z 179 — протонированной молекуле аминоэтилированного аденина (III). Ввиду того что два последних соединения обладают основной аминоэтильной группой (pK_a 10), в масс-спектрах обнаружены также протонированные ионы их гидрохлоридов с m/z соответственно 348 и 215. Раскрытие хлористым водородом азиридиновых колец у соединения (I) приводит к образованию хлорида (IV) и дихлорида (m/z 494 и 530 соответственно для дважды и трижды протонированного иона), а их гидролиз — к тиофосфамиду (V) (m/z 407 для протонированного молекулярного иона).



Пики с массовыми числами: 189, 225, 262 и 300 принадлежат, по-видимому, ион-радикалу тиотэфа и протонированным молекулярным ионам продуктов присоединения к нему одной, двух или трех молекул хлористого водорода. Для ионов с m/z 252 и 335 формул соответствующих им соединений нам предложить не удалось.

В дальнейшем, чтобы избежать присоединения хлористого водорода, мы проводили алкилирование в присутствии хлорной кислоты. Количество продуктов реакции при этом значительно сократилось (рис. 2a); в основном исчезли соединения, которые в опытах с соляной кислотой (ср. рис. 1) элюировались после аденозина

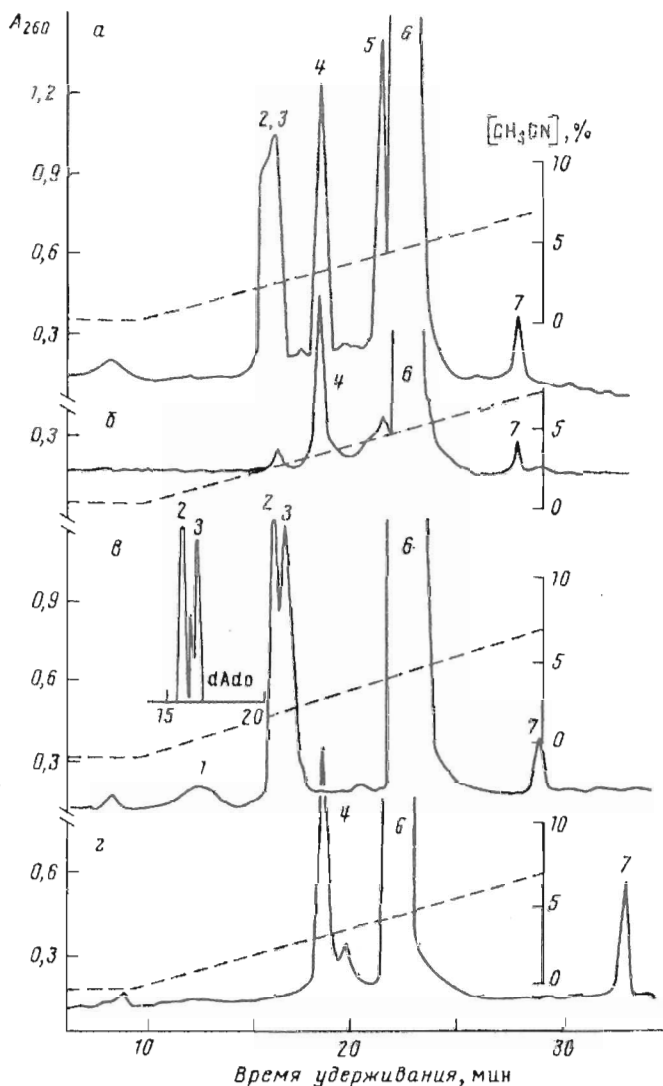


Рис. 2. ВЭЖХ продуктов алкилирования аденозина: тиотэфом в присутствии HClO_4 , исходный pH 4,5 (а), тиотэфом в отсутствие протондонора, pH 8,0 (б), этиленгликолем (в) и МЭФ, pH 7,0 (г). Слева на рис. 2в — фрагмент хроматограммы продуктов алкилирования этиленимином dAdo; между пиками 2 и 3 — пик Ade, остальное аналогично алкилированию Ado. 1 — N1-R-Ade (а) и N3-R-Ade (б), 2 — N6-R-Ado, 3 — N1-R-Ado, 4 — N1-R'-Ado, 5 — N1-R'-Pur, 6 — Ado

и, по-видимому, образовывались в результате присоединения HCl к тиотэфу и продуктам алкилирования. В случае использования хлорной кислоты присоединения хлорат-иона не происходит [1], а гидролиз P—N-связей тиотэфа приводит к образованию значительного количества продуктов аминоэтилирования (пики 2, 3 на рис. 2а).

Последнее подтверждается данными алкилирования аденозина в нейтральных и щелочных средах. Продукты аминоэтилирования, как видно из рис. 2в, элюируются в виде двух плохо разделяющихся фракций — 2 и 3. В случае, когда для алкилирования вместо аденозина был взят дезоксиаденозин, фракции разделялись лучше. Более того, между ними появился еще один небольшой пик (см. фрагмент хроматограммы на рис. 2а), который, судя по времени

УФ-спектры алкилированных нуклеозидов

А — данные настоящей работы, Б — данные работы [5]; алкилирующие агенты — этиленимин, тиотэф и МЭФ (А); диалкилсульфат, окись этилена и азотистый иприт (Б); R — $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2$, R^1 — $(\text{N})_2\text{P}(\text{S})(\text{CH}_2)_2$ - или $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})(\text{CH}_2)_2$ -

Нуклеозид	Рисунок	R_f	pH	А		Б			
				λ_{max}	λ_{min}	λ_{max}	λ_{min}		
Аденозин (фр. 2, 3)	2a		1	263	236				
			12	270 (263, 278, 300) *	241				
	2a, б, з		1	263	238				
			12	273 (263, 282, 300)	244				
N1 — R	3a	0,27	1	262	231	259	235		
	3б		0,83	12	263 (270, 300)			243	
N1 — R ¹	3a	0,00	1	263	234	261 (268, 300)	241		
	3б		0,08	12	264 (270, 300)			245	
N ⁶ — R	3a	0,78	1	263	235	264	239		
			12	270	240			268	243
N7 — R(R ¹)	3б	0,31	1	268	237	268	239		
			12	259	234			260	—
Гуанозин N1 — R(R ¹)	5a		1	258 (278)	229	258 (280)	230		
			12	256 (270)	236	255 (270)	228		
N7 — R(R ¹)	5a		1	258 (275)	234	258 (277)	238		
			12	267 (расщ.)					
N7 — R(R ¹) **	5a		1	272	242	271	—		
			12	266	248			265	—
Цитидин N3 — R(R ¹)	5б		1	281	245	280	247		
			12	267	245			267	248
N(?) — R	5б		1	286	245	286(N3, N ⁴ [10])	252		
			12	280	256			277	253
									287(C5)
						278	255		

* В скобках приведены дополнительные максимумы поглощения.

** Продукты с расщепленным имидазольным циклом (см. формулу на с. 490).

удерживания (16 мин [1]), принадлежит незамещенному аденину. При алкилировании аденозина тиотэфом в отсутствие протондонора и МЭФ при pH 7 фракции 2 и 3 отсутствуют (рис. 2б, з).

Таким образом, исходя из расположения пиков на рис. 2a — з представляется вероятным, что фракции 2, 3 на рис. 2a отвечают продуктам аминоэтилирования аденозина (Ado-R), а фракции 4 и 5 — продуктам фосфаминоэтилирования (Ado-R¹). По УФ-спектрам в кислой среде (см. таблицу) фракции 2—5 практически не отличаются друг от друга, и можно было предположить, что они являются продуктами N⁶-алкилирования. Однако в щелочной среде они обнаруживают дополнительные максимумы поглощения, тогда как для N⁶-этил-аденозина в щелочной среде характерен только один четкий максимум поглощения при 268 нм (ср. [5]). Поэтому, чтобы однозначно установить характер алкилирования в полученных продуктах, мы провели кислотный гидролиз фракций 2—5. У образующихся при этом свободных алкилированных оснований смещение максимумов поглощения сильнее зависит от расположения алкили-

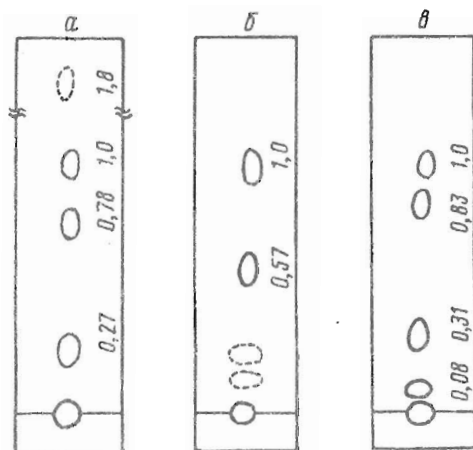


Рис. 3. ТСХ продуктов алкилирования аденозина тиотэфом на пластинах Silufol в системах А (а) и Б (б) и БХ на бумаге Filtrak FN-12 в системе А (в). Приведены подвижности относительно Ado . Пояснения в тексте и подписях к рис. 4

рующего остатка: в частности, для N^1 - и N^6 -замещенных аденина разница составляет 9—10 нм. В результате нами было установлено, что только продукт из фракции 2 после гидролиза имеет УФ-спектр N^6 -замещенного аденина, тогда как продукты из фракций 3 и 4 проявили спектры N^1 -алкилированного аденина.

Фракция 5 после концентрирования упариванием при 40—50° С в вакууме водоструйного насоса и повторного разделения на той же колонке ВЭЖХ для удаления примеси аденозина имела спектры N^1 -алкилинозина [5], а ее гидролизат — спектры N^1 -гипоксантина (максимумы при 249 и 262 нм в кислой и щелочной средах соответственно). Это, во-первых, свидетельствует в пользу N^1 -алкилирования, а во-вторых, указывает на нестабильность продуктов алкилирования аденозина при нагревании в ацетонитриле.

Сравнивая полученные нами спектры поглощения аденозина, алкилированного тиотэфом и этиленимином, со спектрами аденозина, алкилированного другими модифицирующими агентами (таблица в обзоре Б. Зингер [5], из которой взяты данные для графы Б таблицы в настоящей работе), мы обратили внимание на то, что все метил- и этилзамещенные аденозины наряду с основным максимумом поглощения в щелочной среде при 258 и 261 нм (соответственно для Me- и Et-производных) имеют дополнительный максимум поглощения (плечо) соответственно при 265 и 268 нм. В то же время эти дополнительные максимумы являются основными (и единственными) в спектрах соответствующих им N^6 -замещенных аденозинов. Логично предположить, что дополнительные максимумы наблюдаются из-за частичной перегруппировки в щелочной среде N^1 -алкилированных производных в N^6 -замещенные (по механизму перегруппировки Димрота). По утверждению ряда авторов, такая перегруппировка может протекать в слабощелочных и даже нейтральных средах [6—8].

В случае нуклеозидов, алкилированных этиленимином и его производными, перегруппировку $\text{N}^1 \rightarrow \text{N}^6$ может катализировать основная аминогруппа, вступающая в положение N^1 гетероцикла. В результате при измерении УФ-спектров в щелочной среде поглощение при λ_{max} 270 нм оказывается выше, чем при λ_{max} 263 нм. В пользу того, что большинство полученных нами веществ является N^1 -замещенными, свидетельствует и характерное только для N^1 -алкилированных аденозинов плечо при 300 нм. В подтверждение сказанному было установлено, что иные, чем ВЭЖХ, методы разделения (в частности, ТСХ и БХ) дают

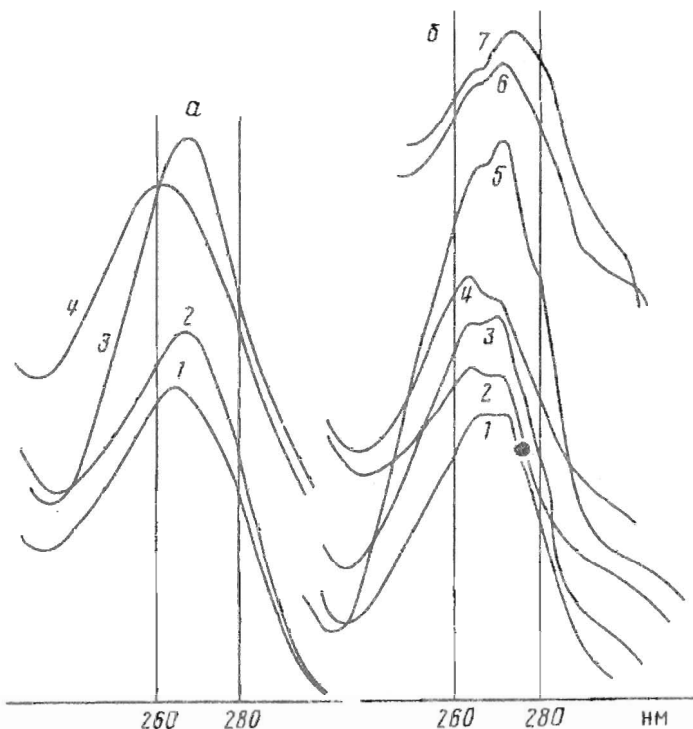


Рис. 4. УФ-спектры продуктов алкилирования аденозина. *a*: 1, 2 — по положению N6 (R_f 0,78 — рис. 3*a*), 3, 4 — по положению N7 (0,31 — 3*в*) соответственно в кислой и щелочной средах; *б* — по положению N1 в 0,1 н. NaOH: 1 — пятно с R_f 0,57 (рис. 3*б*), 2 — 0,00 (3*a*), 2 и 3 — 0,27 (3*a*) соответственно на 1-е и 2-е сут, 4 — 0,08 (3*в*), 5 — 0,83 (3*в*), 6 и 7 — фракции 3 и 4 (рис. 2) соответственно

возможность при использовании систем растворителей с нейтральным значением pH (см. рис. 3) выделить вещества, в спектрах которых преобладает максимум поглощения при 263 нм, полностью соответствующий литературным данным для N1-замещенных аденозинов (см. таблицу).

Так, продукты, выделенные ТСХ как показано на рис. 3*a* и имеющие R_f 0,00 и 0,27, проявляют в щелочной среде одинаковые спектры с главным максимумом поглощения при 263 нм (кривая 2, рис. 4*б*). Кроме того, было замечено, что после 10—12 ч выдерживания в щелочи (в спектрофотометрической кювете, pH 12) вещество с R_f 0,27 изменяло свой спектр и преобладающим становился максимум при 270 нм, чего не наблюдалось для вещества с R_f 0,00 (кривая 3, рис. 4*б*). Это наблюдение, наряду с фактом существования двух веществ, имеющих одинаковые УФ-спектры, даст основание полагать, что вещество с R_f 0,27, как более подвижное в нейтральной системе растворителей, — N1-аминоэтилированный аденозин (II), быстрее изменяющий свои спектральные характеристики благодаря повышенной основности, тогда как более гидрофобное и менее основное вещество с R_f 0,00 — продукт фосфаминоэтилирования (I).

Третий продукт, судя по его УФ-спектрам и подвижности в системе А (R_f 0,78), — это N⁶-аминоэтилированный аденозин (кривые 1 и 2, рис. 4*a*). Его содержание в смеси алкилированных продуктов составляет около 20%, что соответствует примерно такому же количеству продукта фракции 2 (рис. 2*a*) при разделении методом ВЭЖХ.

Методом БХ (рис. 3*в*) наряду с продуктами N1-замещения (R_f 0,08 и 0,83) и неидентифицированным соединением (или смесью) на старте выделен продукт

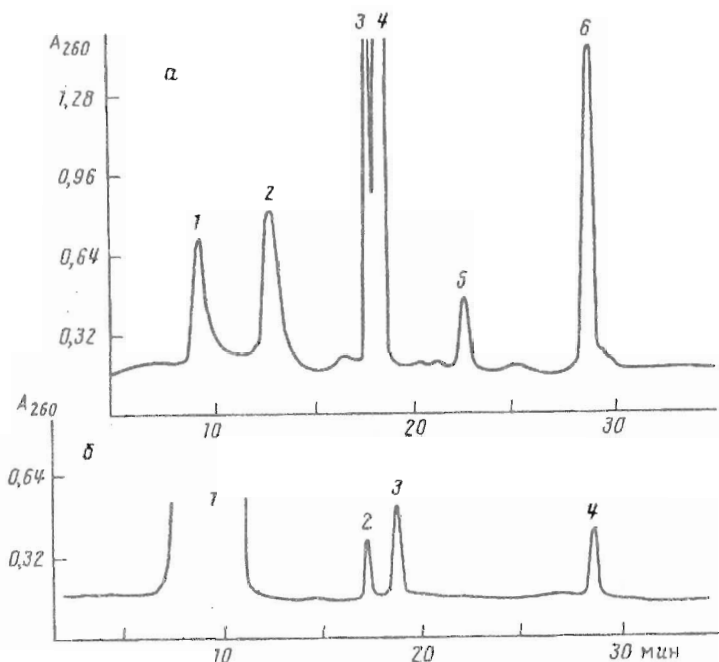


Рис. 5. ВЭЖХ продуктов алкилирования гуанозина (а) и цитидина (б) моноазиридиндиэтилфосфатом. а: 1 — 5-N-R-пиримидин, 2 — 5-N-R¹-пиримидин, 3 — N7-R-Guo, 4 — Guo, 5 — N1-R¹-Guo, 6 — N7-R¹-Guo; молярное соотношение Guo — МЭФ — НСlO₄ 1 : 1 : 0,1, проба 40 ОЕ₂₆₀; б: 1 — Cyd, 2 — N(?) -R-Cyd, 3 — N3-R-Cyd, 4 — N3-R¹-Cyd; молярное соотношение 1 : 1 : 0,25, проба 100 ОЕ₂₆₀

алкилирования по положению N7 гетероцикла, флуоресцирующий в УФ-свете (R_f 0,31). Он легко идентифицируется благодаря характерному сдвигу максимумов поглощения в кислой и щелочной средах (см. таблицу) вследствие расщепления имидазольного кольца и образования производных пиримидинового ряда.

При использовании для разделения алкилированных смесей щелочной системы растворителей Б нижнее пятно (R_f 0,00, рис. 3б) имело спектр поглощения N1-алкиладенозина (N1-R-Ado), а верхнее (R_f 0,57), элюированное с хроматограммы 0,1 н. НСl, в области 263—270 нм имело «полочку» (кривая 1, рис. 4б), тогда как элюированное 0,1% раствором аммиака — четкие спектры N⁶-замещенного аденозина. По-видимому, превращение N1-алкиладенозина, начавшееся в щелочной системе Б (рН 11), о чем свидетельствует и упомянутая «полочка», полностью завершается при элюировании вещества из пятна раствором аммиака.

Наблюдаемые различия в спектрах поглощения в щелочной среде для N⁶-замещенных аденозинов с различными алкильными радикалами (λ_{\max} 266, 268, 270 и 273 нм соответственно для метил-, этил-, аминоэтил- и фосфаминоэтиладенозина) характерно, как указывалось ранее [1], для веществ, замещенных по экзоциклической аминогруппе гетероцикла.

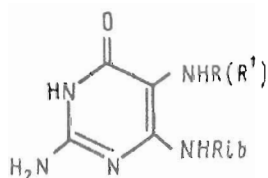
И наконец, на хроматограммах рис. 2а, в присутствуют малоинтенсивные, но хорошо заметные пики 1, которые элюируются в примененных нами условиях на 8-й и 12-й мин и, согласно данным работы [1], являются соответственно N1- (R¹-Ade) и N3- (R-Ade) замещенными аденинами.

Таким образом, на основании изложенного можно сделать вывод, что в аденозине главный центр реакций алкилирования — положение N1 гетероцикла. В нейтральных условиях алкилирования аденозина тиотэфом или моноазиридиндиэтилфосфатом основным продуктом реакции оказывается фосфаминоэти-

лированный нуклеозид (I) или (VI) (пик 4 на рис. 2а, з), тогда как в кислых средах значительную часть составляют продукты аминоэтилирования, преимущественно по положениям N1 и N⁶ (рис. 2а). В значительно меньшей степени (5—8%) модифицируется положение N7 гетероцикла, а в случае алкилирования этиленимином в небольших количествах образуется продукт замещения по положению N3.

В ряду исследованных нами нуклеозидов наибольшая степень алкилирования (до 70% превращения) наблюдалась только для производных гуанина, а для аденозина она была в 2—3 раза меньше. В отличие от производных аденозина продукты алкилирования гуанозина легко идентифицируются по УФ-спектрам. Характерный признак модификации гуанозина по положению N7 — расщепление имидазольного кольца в щелочной среде, после чего спектр в кислоте не воспроизводится.

При алкилировании гуанозина МЭФ из реакционной смеси выделено и идентифицировано пять продуктов (таблица и рис. 5а). Два из них, как и в случае аденозина, — продукты аминоэтилирования (R) и фосфаминоэтилирования (R¹) по положению N7. Еще два — 7-алкилпроизводные с расщепленным имидазольным кольцом, т. е. N5-R(R¹)-производные пиримидина.



В небольшом количестве обнаружен также продукт N1-замещения. При алкилировании дезоксигуанозина модификация по положению N7 приводит к повышению лабильности гликозидной связи [9] и основным продуктом реакции оказывается 7-алкилгуанин.

При алкилировании цитидина МЭФ наряду с продуктами N3-замещения (таблица и рис. 5б) нами был выделен продукт, по спектрам поглощения близкий N3, N⁴-диэтилцитидину. Однако указанный продукт дизамещения был получен авторами работы [10] в совершенно других условиях алкилирования (иодистым этилом в диметилсульфоксиде в присутствии K₂CO₃). Мы затрудняемся однозначно идентифицировать выделенный нами продукт как продукт дизамещения так как одновременное алкилирование сразу по двум центрам в условиях общей низкой реакционной способности пиримидинов в водной среде представляется маловероятным, равно как и то, что это может быть продукт замещения по C5.

Алкилирование уридина этиленимином и МЭФ привело только к N3-производным [4]. Продукты модификации тимидина в этих условиях не обнаружены.

Экспериментальная часть

В работе использованы нуклеозиды фирм Serva (ФРГ) и Reanal (Венгрия). Алкилирующие агенты — тиотэф и МЭФ — получены по методикам [11, 12]. Этиленимин отечественного производства перегоняли и хранили над NaOH.

Разделение в режиме обращенно-фазовой ВЭЖХ проводили на колонке (4×150 мм) Bio-Sil ODS-5S (Bio-Rad, США) при скорости элюирования 0,7 мл/мин градиентом концентраций ацетонитрила в 0,05 М натрий-фосфатном буфере, рН 7, на приборе фирмы Bio-Rad (США) с проточным УФ-детектором UV monitor, model 1306. Концентрации рабочих растворов — 0 и 20% CH₃CN для

опытов, проводившихся в присутствии HClO_4 , и 0 и 80% — для опытов в присутствии HCl .

Гидролиз выделенных продуктов осуществляли посредством кипячения в 0,1 н. HCl (1,8 мл раствора продукта и 0,2 мл конц. HCl) в течение 1 ч.

УФ-спектры измеряли на приборе Specord UV-VIS (Karl Zeiss, ГДР), рН среды — на универсальном иономере ЭВ-74.

Для веществ, выделенных методами БХ и ТСХ, соответствующие пятна вырезали или соскабливали и помещали в ~2 мл 0,1 н. HCl для измерения УФ-спектров в кислоте. Затем туда же прибавляли расчетное количество концентрированного NaOH (до концентрации 0,1 н.) и измеряли спектр в щелочи. При достаточном количестве вещества его сразу распределяли между кюветами с 0,1 н. HCl и 0,1 н. NaOH .

Приближенный расчет содержания каждого вещества в составе алкилированной смеси производили, исходя из молярного коэффициента поглощения и объема соответственно смеси, наносимой на хроматограмму, и вещества, снятого с нее.

Масс-спектры измеряли на модифицированном промышленном приборе МИ-12-01 методом полевой десорбции. В качестве эмиттера использовали вольфрамовую нить диаметром 10 мкм с осажденными на ней золотыми микродендритами, обеспечивающими высокую адсорбционную емкость поверхности эмиттера. Напряженность поля вблизи поверхности эмиттера была ~10⁹ В/м. Исследуемый образец в микрограммовых количествах наносили непосредственно на поверхность эмиттера.

Для разделения продуктов алкилирования с помощью ТСХ и БХ использовали пластины Silufol UV-254 (Чехо-Словакия) и бумагу Filtrak FN-12 (Германия); системы растворителей: *n*-бутанол — этанол — вода, 50 : 16 : 34 (А) и изопропанол — аммиак (25%) — вода, 7 : 1 : 2 (Б).

Алкилирование нуклеозидов. К 0,01 ммоль нуклеозид в 1 мл воды приливали раствор, содержащий эквимольные количества алкилирующего агента (тиотэфа) и протонодонора (HCl или HClO_4) в 1 мл воды. Смесь выдерживали 16—20 ч при 37° С и после фильтрования на стеклянном фильтре от мути (не исследована, следы) разделяли на колонке при нагрузке 0,2—0,4 мг на укол. Исходный рН реакций в присутствии кислоты составлял для тиотэфа 4,5, в конце реакции — 6,8—7. Без протонодонора исходный рН среды для тиотэфа составлял 8, для этиленimina — 10—11 (в зависимости от концентрации), для МЭФ — 7,0—7,5. Для опытов с этиленимином рН доводили разбавленной HClO_4 до 7,0. В отсутствие протонодонора (опыты с тиотэфом и МЭФ) для повышения выхода продуктов реакции увеличивали (обычно вдвое) концентрации других реагентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волощук Т. П., Пацковский Ю. В., Потопальский А. И. // *Биоорган. химия*. 1990. Т. 16. № 7. С. 981—990.
2. Серебряный А. М., Андриевский Г. В., Беккер А. Р., Сибельдина Л. А., Поволоцкая М. И. // *Биоорган. химия*. 1985. Т. 12. № 4. С. 499—506.
3. Hemtinki L. // *Chem.-Biol. Inter.* 1984. V. 48. № 3. P. 249—280.
4. Пацковский Ю. В., Волощук Т. П., Потопальский А. И. // *Биополимеры и клетка*. 1989. Т. 5. № 5. С. 64—70.
5. Singer D. // *Progr. Nucl. Acids Res. and Mol. Biol.* V. 15/Ed. W. E. Cohn. N. Y.: Acad. Press, 1975. P. 219—280.
6. *Органическая химия нуклеиновых кислот*/Ред. Н. К. Кочетков, Э. И. Будовский. М.: Химия, 1970. 720 с.
7. Price Ch. S., Gaucher M., Koner P., Shibakawa R., Sowa J. R., Yamaguchi M. // *Biochim. et biophys. acta*. 1968. V. 166. № 2. P. 327—359.
8. Windmueller H. G., Kaplan N. O. // *J. Biol. Chem.* 1961. V. 263. № 10. P. 216—226.

9. Росс У. Биологические алкилирующие вещества. М.: Медицина, 1964. 260 с.
10. Sun L., Singer D.//Biochemistry. 1974. V. 13. № 9. P. 1905—1913.
11. Лидак М. Ю., Гиллер С. А., Медне А. Я. ТитоТЭФА. Рига: Изд. АН ЛатвССР, 1961. С. 5—8.
12. Гречкин Н. П.//Изв. АН СССР. Сер. хим. 1956. № 5. С. 538—542.

Поступила в редакцию
16.I.1991

После доработки
3.VII.1992

T. P. Voloshchuk, Yu. V. Patskovsky, A. I. Potopalsky

ALKYLATION OF NUCLEIC ACID COMPONENTS BY ETHYLENIMINE DERIVATIVES. 2. ALKYLATION OF NUCLEOSIDES

Institute of Molecular Biology and Genetics, Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

HPLC, UV- and mass-spectroscopy have been used to isolate and identify products of nucleosides alkylation by ethylenimine and its derivatives (thioTEPA and monoaziridine diethylphosphate). Adenosine modification under neutral and slightly acidic conditions was shown to occur mainly at N1, N6 positions, and very poorly at N7 position, where as cytidine was modified at N3 position. No thymidine alkylation was detected under such conditions.