

М. В. ЛИЧИНА, Л. А. ПЛУГИНА, Л. Л. ГУМАНОВ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДИАЗОАЦЕТОНА С ОСНОВАНИЯМИ ДНК

(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 26 VI 1970)

Диазокетоны, соединения типа $R-C(=O)-CHN_2$, обладают сильным

мутагенным действием. Это было показано на различных объектах (¹⁻⁴). Изучение механизма мутагенного действия 1,4-бисдiazоацетилбутана, проведенное на актиномицетах, привело к заключению, что diaзокетоны вызывают трансверсии типа Г/Ц — Т/А. Было отмечено также, что для действия diaзокетонов требуются экспозиции более длительные, чем например, в случае нитрозоалкилмочевин (⁵).

Целью настоящей работы было изучение механизма взаимодействия diaзоацетона с основаниями ДНК. Как было нами установлено, diaзоацетон реагирует в заметных количествах только с гуанином и гуанозином при pH 7 и температуре 37° С. С другими компонентами ДНК и в других условиях (pH от 2 до 11, температура от 50 до 80°) взаимодействия не удалось обнаружить. Так как продукт взаимодействия diaзоацетона с гуанином оказался нестойким и поэтому труднодоступным, работа проводилась на гуанозине. Для выяснения механизма реакции проводилось

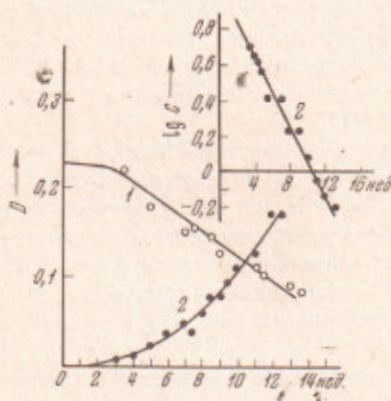


Рис. 1

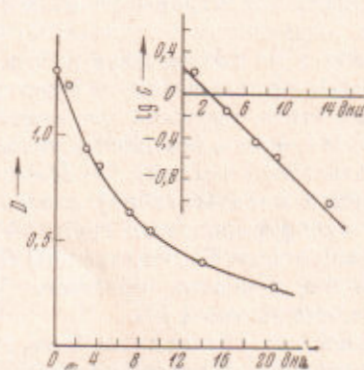


Рис. 2

Рис. 1. Кинетические кривые взаимодействия гуанозина с diaзоацетоном. Исходные концентрации: гуанозина $0,18 \cdot 10^{-2}$ мол/л, diaзоацетона $2,38 \cdot 10^{-2}$ мол/л. 1 — расходование гуанозина, 2 — накопление продукта

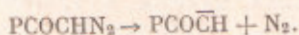
Рис. 2. Кинетическая кривая распада ацетона. Исходная концентрация $2,38 \cdot 10^{-2}$ мол/л

изучение кинетики взаимодействия гуанозина с diaзоацетоном. Кинетику реакции снимали при исходных концентрациях гуанозина 0,0018 мол/л и diaзокетона 0,0238 мол/л в фосфатно-цитратном буфере, pH 7. Реакционную смесь термостатировали при 37°, через определенные промежутки времени отбирали пробы по 0,1 мл и хроматографировали на бумаге «С» Ленинградской фабрики № 2 в системах: бутанол — муравьиная кислота — вода (77 : 10 : 13) (I) и вода (II). Вещества на хроматограмме лока-

лизовали в ультрафиолетовом свете; соответствующие пятна экстрагировали 0,1 N водным аммиаком и снимали спектры поглощения на спектрофотометре СФ-4.

Результаты кинетического изучения реакции взаимодействия диазоацетона с гуанозином представлены на рис. 1. Из рисунка видно, что реакция протекает очень медленно. Кривая ее хорошо спрямляется в полулогарифмических координатах и дает константу скорости реакции, равную $0,1640 \cdot 10^{-6} \text{ сек}^{-1} \pm 0,1 \%$.

Известно, что диазокетоны могут реагировать либо без потери азота, либо предварительно распадаясь с выделением свободного азота и образованием карбена (°):



Изучение кинетики распада диазоацетона в аналогичных условиях показало (рис. 2), что распад осуществляется с константой скорости, равной $0,1136 \cdot 10^{-5} \text{ сек}^{-1} \pm 0,1 \%$.

Таким образом, реакция взаимодействия диазоацетона с гуанозином является реакцией первого порядка и имеет константу скорости, соизмеримую с константой скорости распада диазоацетона. Можно считать, что взаимодействие с гуанозином осуществляется путем предварительного распада диазоацетона с образованием карбена.

Хроматографически чистый продукт реакции имеет в системе I R, 0,35, в системе II — 0,89. Он представляет собой белый порошок, довольно легко гидролизующийся при хранении в растворе с образованием исходного гуанозина. Гуанозин образуется также и при обработке его 1 N HCl. Кривая поглощения и.к. спектра имеет ярко выраженный максимум при 1590 см^{-1} , характерный для частоты валентно-

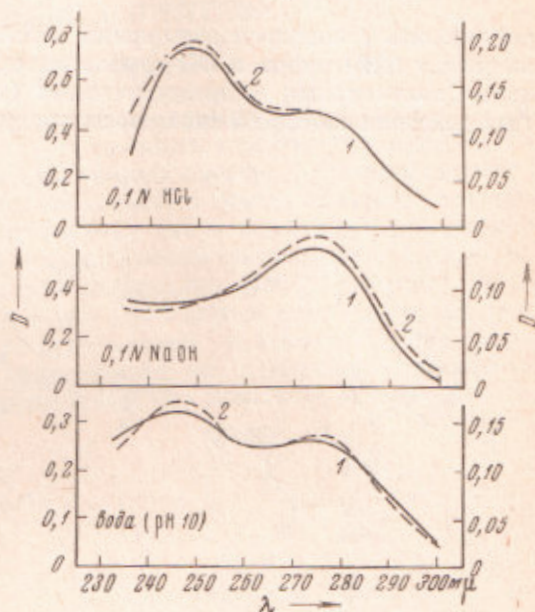


Рис. 3. Кривые поглощения гуанозина (1) и продукта взаимодействия гуанозина с диазоацетоном (2)

Таблица 1

Соединение	λ_{max} , мμ		
	0,1 N HCl	0,1 N NaOH	вода pH 10
Продукт взаимодействия гуанозина с диазоацетоном	258	260	255
Гуанозин	256	260—270	253

го колебания карбонильного кислорода. В спектре отсутствует частота колебания азота $-\text{N}=\text{N}-$, что является подтверждением предварительного распада диазоацетона с выделением азота и образованием карбена.

При взаимодействии с 2,4-динитрофенилгидразином продукт дает желтое окрашивание, характерное для карбонильной группы.

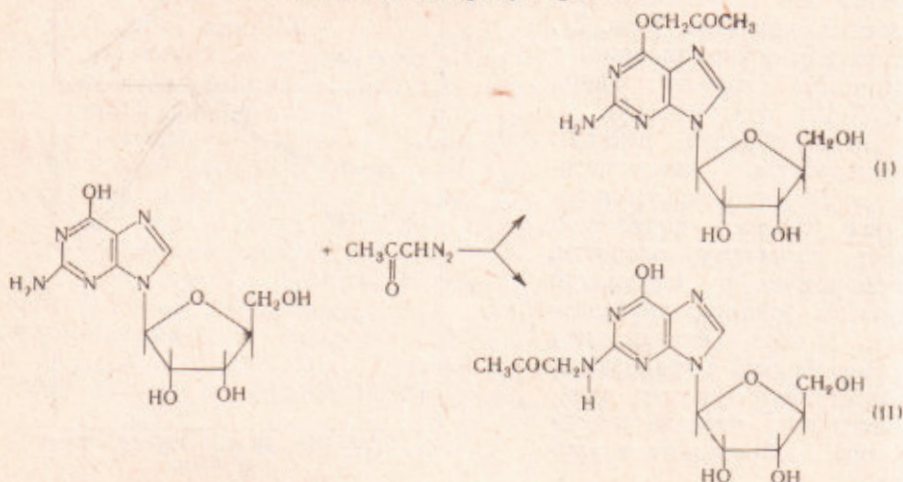
Таким образом, все приведенные выше данные подтверждают присутствие в продукте взаимодействия группировки, внесенной диазоацетоном. У.-ф. спектр продукта лишь незначительно отличается от спектра исходного гуанозина (табл. 1).

Незначительное смещение максимумов поглощения в у.-ф. спектре гуанозина, вызванное взаимодействием с диазоацетоном, наводит на мысль о том, что диазоацетон взаимодействует не с атомом, входящим в кольцо гуанина, а с одним из заместителей.

Карбен $\text{CH}=\text{C}=\text{CH}_2$, являясь электрофильным реагентом, должен



реагировать с электронодонорными заместителями, какими в гуанозине являются NH_2 -группа и OH -группа энольной формы. Выбор между этими двумя возможными взаимодействиями был сделан на основании результата действия азотистой кислоты на продукт реакции.



Если осуществляется реакция (1), обработка азотной кислотой приведет к дезаминированию, а при последующем гидролизе соляной кислотой образуется ксантин. В случае реакции (2) аналогичная обработка приведет к образованию продукта нитрозирования вторичной аминогруппы, который затем превратится в гуанин. Обработка продукта взаимодействия диазоацетона с гуанозином последовательно азотистой и соляной кислотой привела к образованию гуанина, что было доказано хроматографически и спектрофотометрически (рис. 3).

Приведенные данные с достаточной убедительностью доказывают, что диазоацетон взаимодействует с гуанозином в виде карбена, причем местом атаки является аминогруппа. К сожалению, трудная доступность продукта взаимодействия не позволила исследовать его более подробно, в частности, сделать элементарный анализ. Тем не менее, на основании полученных данных кажется возможным приписать продукту взаимодействия структуру II.

Институт химической физики
Академии наук СССР
Москва

Поступило
9 VI 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ V. N. Yuer, W. Szybalski, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 44, 446 (1958).
² И. А. Рапопорт, ДАН, 130, 1134 (1960). ³ О. И. Хизроева, Кн. Специфичность химического мутагенеза, «Наука», 1968, стр. 80. ⁴ Н. Н. Зоз, В сборн. Супермутagens, «Наука», 1966, стр. 93. ⁵ Л. Л. Гуманов, С. Д. Кононова, Н. П. Норенко, Супермутagens, «Наука», 1966, стр. 49. ⁶ И. А. Дьяконов, Кн. Алифатические диазо-соединения, 1958, стр. 102.