

УДК 547.963.3

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ НУКЛЕОЗИДОВ, НУКЛЕОТИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Н. Н. Преображенская и З. А. Шабарова

Работа представляет собой обзор литературных данных о конформации и внутримолекулярных взаимодействиях нуклеозидов, нуклеотидов и их производных: эфиров нуклеотидов, нуклеозидциклофосфатов, олигонуклеотидов, нуклеозидпирофосфатов (включая нуклеотидные коферменты), АТФ и нуклеотидопептидов.

Обсуждается проблема искривленности пентофуранозного цикла и ее влияние на ориентацию заместителей в этом цикле, в том числе на структуру 2', 3'-*цис*-гликольной группировки, проявляющееся в ряде специфических реакций. Рассматривается вопрос о взаимном расположении основания и сахара в нуклеозидах. Библиография — 268 наименований.

ОГЛАВЛЕНИЕ

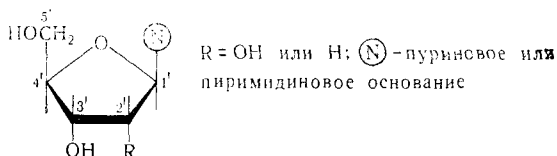
1. Введение	222
2. Рибоза и 2-дезоксирибоза	223
3. Конформация гетероциклического основания	225
4. Взаимное расположение основания и сахара	226
5. Конформация <i>цис</i> -гликольной группировки $C_2'(OH)-C_3'(OH)$	229
6. Конформация связи $C_4'-C_5'$	230
7. Структура фосфатного остатка в нуклеотидах	231
8. Нуклеозидциклофосфаты	231
9. Внутримолекулярные взаимодействия в эфирах нуклеотидов	232
10. Динуклеозидфосфаты и олигонуклеотиды	232
11. Динуклеозидпирофосфаты и нуклеотидные коферменты	234
12. Внутримолекулярные взаимодействия в нуклеотидопептидах	237

1. Введение

За последние десятилетия накоплено огромное количество данных о свойствах и строении нуклеозидов, нуклеотидов и их производных. Однозначно установлено, что нуклеозиды, как правило, являются N-гликозидами *D*-рибозы или 2-дезоксид-*D*-рибозы*. Во всех нуклеозидах углеводный остаток находится в циклической фуранозной форме. Гликозидный центр в них имеет β -конфигурацию (*транс*-расположение связей $C_1'-N$ и $C_2'-O_2'$ или *цис*-расположение связей $C_1'-N$ и $C_4'-C_5'$ **).

* В данном обзоре мы не будем касаться синтетических и природных аномальных нуклеозидов («минорных» компонентов нуклеиновых кислот, нуклеозидов-антибиотиков), среди которых могут быть производные иных, чем *D*-рибоза и 2-дезоксид-*D*-рибоза, сахаров, а также C-гликозиды.

** В данном обзоре приняты следующие сокращения: РНК и ДНК — рибонуклеиновые и дезоксирибонуклеиновые кислоты, соответственно; УМФ — уридин-5'-монофосфат; АДФ — аденозин-5'-дифосфат; АТФ — аденозин-5'-трифосфат; НДФС — нуклеозиддифосфатсахара; УДФГ — уридиндифосфатглюкоза; НАД⁺ — никотинамидаденидинуклеотид окисленный, НАДФ⁺ — фосфоникотинамидаденидинуклеотид окисленный, НАДН — никотинамидаденидинуклеотид восстановленный; ФАД — флавинаденидинуклеотид; ТГФ — тетрагидрофуран; ЯМР — ядерный (здесь, как правило, протонный) магнитный резонанс; ЭПР — электронный парамагнитный резонанс.



Работы по установлению конфигурации нуклеозидов осуществлены при помощи тонких химических методов школой А. Тодда, они признаны классическими и излагаются в ряде обзоров, в том числе на русском языке^{1, 2, 3}. В последние годы большое внимание уделяют физико-химическим методам установления конфигурации нуклеозидов, среди которых несомненно перспективны ЯМР спектроскопия⁴⁻⁸ и спектрополяриметрия⁹⁻²⁰.

В настоящее время химия нуклеозидов достигла такого уровня, когда появляется необходимость в изучении не только конфигурации (т. е. расположения атомов около диссимметрической части молекулы, например, асимметрического атома углерода или кольца), но и реальной геометрической формулы молекул в целом — их конформации. Особенно важна эта проблема в связи с изучением различных полифункциональных производных нуклеозидов, в которых специфическое пространственное строение молекулы может привести к взаимодействию и, следовательно, изменению свойств непосредственно не связанных друг с другом групп.

2. Рибоза и 2-дезоксирибоза

Форма молекулы нуклеозида в значительной степени определяется конформацией пятичленного углеводного цикла.

Тетрагидрофурановый цикл, лежащий в основе рибозы и 2-дезоксирибозы, подобно цикlopентану²¹, не является плоским, так как при этом все его С—С-связи имели бы заслоненную конформацию, характеризующуюся максимумом энергии²². Из-за наличия в кольце фуранозы атома кислорода при искривлении кольца появляются более и менее устойчивые конформации. Легко видеть, что при выведении из плоскости кольца атомов С₂ или С₃ из заслоненной конформации в скошенную переходит больше связей, чем при выведении из плоскости кольца атомов С₁, С₄ или кислорода цикла. Соответственно этому, конформации с внеплоскостными атомами С₂ или С₃ (или обоими) более стабильны.

Для *D*-рибозы и ее 2-дезоксипроизводного искажение кольца, по-видимому, даже более выгодно, чем для тетрагидрофурана, так как скошенное расположение ОН-групп и СН₂ОН-группы дает, по сравнению с заслоненным, еще больший выигрыш энергии, чем скошенное расположение атомов водорода в ТГФ. Кроме того, было найдено, что средняя длина связи С₂—С₃ во многих производных рибозы равна $1,528 \text{ \AA} \pm 0,008$ ²³ (т. е. близка к величине $1,533 \text{ \AA} \pm 0,003$, найденной для обычной С—С-связи²⁴). В таком случае при заслоненном расположении 2- и 3-гидроксилов расстояние между их атомами кислорода должно быть менее $2,5 \text{ \AA}$. Поскольку ван-дер-ваальсов радиус кислорода равен $1,40 \text{ \AA}$ ²⁵, очевидно, что плоская конформация рибозного кольца невозможна²⁶.

По аналогии с ТГФ наиболее выгодными конформациями для рибозы являются такие, в которых из средней плоскости кольца выведены атомы С₂ или С₃^{27, 28}. Это так называемое первичное, или главное, искажение фуранозного кольца. Внеплоскостной атом (С₂ или С₃) может быть смещен в ту сторону, где находится атом С₅, или в противоположную. Соответственно возможны *эндо*- и *экзо*-конформации. Отклонение вне-

плоскостного атома углерода от средней плоскости кольца весьма значительно: 0,5—0,6 Å. Интересно, что наиболее часто в нуклеозидах встречается *эндо*-конформация (см. табл. 1).

ТАБЛИЦА 1

Конформация пентозного кольца в нуклеозидах и нуклеотидах

Соединение	Данные дифракции рентгеновских лучей		Данные ЯМР спектроскопии	
	конформация	ссылки на литературу	конформация	ссылки на литературу
Рибозо-5-фосфат	C_2' -эндо	[31]		
Уридин	C_3' -эндо	[28]		
Цитидин	C_3' -эндо	28, 32, 33	C_3' -эндо	48
5-Бромуридин	C_2' -эндо	34		
Аденозин	C_3' -эндо	28		
Комплекс аденозина с 5-бромуридином	C_3' -эндо	35		
	C_3' -эндо			
Уридин-5'-фосфат	C_2' -эндо	36		
Уридин-3',5'-циклофосфат	C_3' -эндо	37		
Цитидин-3'-фосфат	C_2' -эндо	38—41	C_2' -эндо	48
Аденозин-5'-фосфат	C_3' -эндо	42—44	C_2' -эндо	48
Аденозин-3'-фосфат	C_3' -эндо	45		
Аденозин-3',5'-циклофосфат	C_4' -экзо	46		
Аденилил-(2' → 5')-уридин остаток аденозина	C_2' -эндо	47		
	C_3' -эндо			
Тимидин	C_3' -экзо	49 *	O-эндо	29, 30
Дезоксиуридин			O-эндо	29, 30
5-Фтордезоксуридин	C_2' -эндо	38		
5-Бромдезоксуридин	C_2' -эндо	34, 51		
5-Иоддезоксуридин	C_2' -эндо	52		
Дезоксиаденозин	C_3' -экзо	53		
Комплекс дезоксигуанозина с 5-бромдезоксуридином	C_2' -эндо	54		
	C_2' -эндо			
Тимидин-5'-фосфат	C_3' -эндо	55		
Дезоксиаденозин-5'-фосфат			O-эндо	29, 30

* Тимидин — единственный нуклеозид, структура которого была изучена также методом ЭПР спектроскопии ⁵⁰.

Здесь, однако, следует отметить, что для 2-дезоксирибозы (вследствие того, что в 2-положении имеется не ОН-группа, как в рибозе, а атом водорода) заслоненная или частично заслоненная конформация связи C_2' — C_3' характеризуется меньшим напряжением по сравнению с рибозой и может, по-видимому, реализоваться в растворе. Действительно, с помощью ЯМР спектроскопии для ряда дезоксирибонуклеозидов (тимидин, дезоксиуридин, дезоксиаденозин-3'-фосфат) обнаружена такая конформация углеводного цикла, в которой из средней плоскости кольца выведен не атом C_2' или C_3' , а циклический атом кислорода (O-эндо-конформация, см. табл. 1) ^{29, 30}.

Кроме первичного (главного) искривления, в рибозном остатке нуклеозидов имеется вторичное (минорное) искривление: как правило, че-

тыре атома рибозного кольца, определяющие его среднюю плоскость, также не являются абсолютно копланарными. Но, хотя и в этом случае отклонение выходит за пределы ошибки опыта, оно не превышает 0,05 Å (т. е. 8—10% от первичного искривления)³⁸.

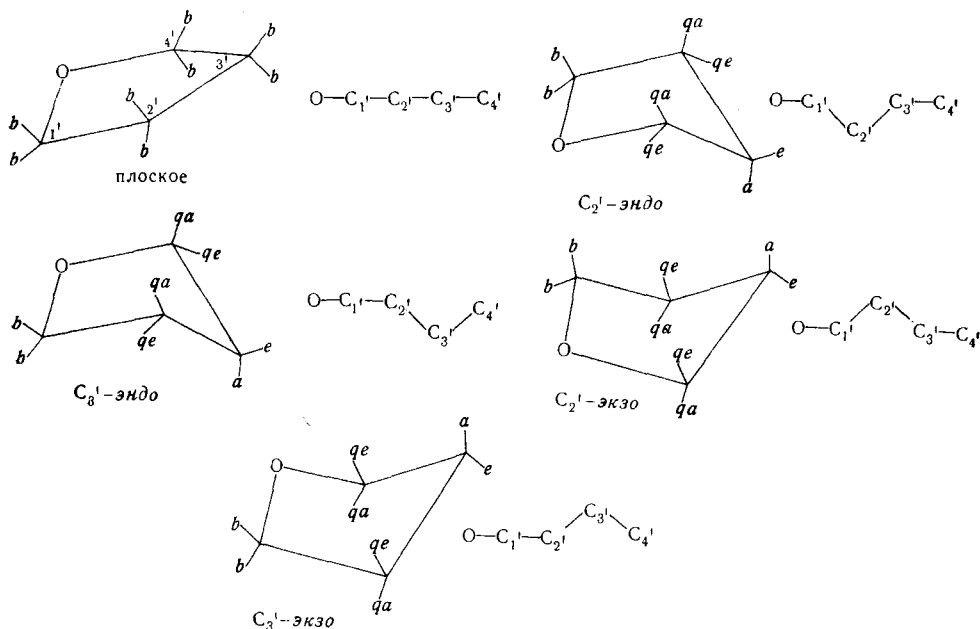


Рис. 1. Ориентация заместителей в фуранозном кольце в зависимости от характера его искривления (*a* и *e* — аксиальная и экваториальная, соответственно, *qa* и *qe* — квазиаксиальная и квазиэкваториальная, *b* — биссектральная)

Следствиями искривления фуранозного кольца в нуклеозидах являются отклонения длин связей С—С и С—О в кольце от нормальных значений (до $\pm 0,11$ Å) и валентных углов от тетраэдрических (до $\pm 9^\circ$)^{21, 28—53}.

Внешние углы и длины связей в рибозном кольце также отклоняются от нормальных значений. В результате заместители у углеродных атомов рибозы ориентируются так, как показано на рис. 1. Здесь следует отметить, однако, что по данным ЯМР спектроскопии ориентация заместителей в некоторой степени зависит от их характера: в изомерных, 2'- и 3'-О-бензилнуклеозидах угол кручения между связями $C_1'-H_1'$ и $C_2'-H_2'$ меньше в 2'-изомере, чем в 3'-изомере⁵⁶.

3. Конформация гетероциклического основания

Рентгеноструктурный анализ нуклеозидов и нуклеотидов показал, что гетероциклические основания во многих случаях являются практически плоскими, т. е. отклонения атомов кольца от средней плоскости лежат в пределах ошибки опыта^{32, 35, 36, 45, 47, 55} (см. также обзор⁵⁷).

Однако описан ряд случаев, когда обнаружено отклонение атомов основания от копланарности. Особенно заметно искривление в пиримидиновых производных. Например, в цитидине³⁸ и цитидин-3'-фосфате^{21, 30} атомы N_1 и C_4 выведены из средней плоскости основания в одну

и ту же сторону *. Отклонения составляют $\sim 0,05 \text{ \AA}$, так что пиримидиновое основание принимает форму мелкой лодки. В пуринах отклонения атомов гетероциклического ядра от средней плоскости несколько меньше.

В то же время заместители в гетероциклических кольцах нуклеотидов и нуклеозидов (амино-группа, кислород, метильная группа, C_1' -атом пентофуранозы) смещены из средней плоскости основания весьма значительно. При этом O_2 и C_1' (а также O_4 и C_7 в тимине) выведены в противоположные стороны^{32, 36, 52}. Смещение углеродного атома рибозы C_1' из средней плоскости гетероцикла является, по-видимому, правилом и достигает значительной величины (до $0,2\text{--}0,3 \text{ \AA}$)^{18, 22, 34, 36, 41, 47}. В результате гликозидная связь образует с плоскостью основания угол³⁴, равный, например, в аденозин-3'-фосфате $3,5^\circ$.

4. Взаимное расположение основания и сахара

Важную роль в определении геометрической формы молекулы нуклеотида играет взаимное расположение основания и сахара. Наглядное, хотя и неполное, представление об этом дает величина диэдрального угла

ТАБЛИЦА 2

Диэдральные углы между плоскостями основания и сахара в нуклеозидах и нуклеотидах

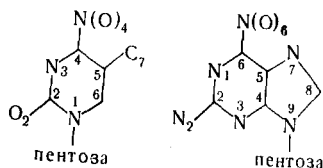
Соединение	Угол, °	Ссылки на литературу
Цитидин	76	21
Тимидин	89	49
	90	50
Дезоксиаденозин	69	53
Комплекс аденозина с 5-бромуридином	70 } 69 }	35
5-Иоддезоксиуридин	81	51
Комплекс дезоксигуанозина с 5-бромдезоксицитидином	69 } 77 }	54
Аденозин-5'-фосфат	76	43
Аденозин-3'-фосфат	55	45
Тимидин-5'-фосфат	75	55
Уридин-3', 5'-циклофосфат	60, 62 *	37
Аденозин-3', 5'-циклофосфат	138, 137 *	46

* Значения диэдральных углов для двух конформаций, существующих в одной кристаллической ячейке (подробнее см. стр. 232).

между средними плоскостями основания и сахара. Интересно отметить, что еще в 1947 г. Астбери на основании данных рентгеноструктурного анализа, полученных Хендриком⁵⁸, считал, что плоскости гетероциклического основания и углерода в нуклеозидах параллельны (цит. по⁵⁹). Однако в 1950 г. Фурберг показал²⁶, что этот вывод является результатом неправильной интерпретации экспериментальных данных и в действительности кольца в нуклеозидах приблизительно перпендикулярны друг другу. Это оказалось справедливым для всех исследованных к настоящему времени нуклеозидов и нуклеотидов (см. табл. 2).

Очевидно, что при одном и том же значении диэдрального угла между плоскостями основания и сахара возможно вращение основания вокруг гликозидной связи. Поэтому для полной характеристики взаимного расположения основания и сахара необходимо знать величину торсионного угла φ_{CN} . Это угол, который образуется проекциями связей $C_1'-O_1'$ и N_1-C_6 (в случае

* В данном обзоре применена система нумерации пиримидинового и пуринового ядра, принятая в Chem. Abstr.:



пириимидинов) или N_9-C_8 (в случае пуринов). Если N_1-C_6 пириимидина (или N_9-C_8 пурина) и $C_1'-O_1'$ сахара антипараллельны, φ_{CN} считается равным 0° ; положительные углы отсчитываются по часовой стрелке, отрицательные — против часовой стрелки, если смотреть в направлении от C_1' к $N^{39, 40}$.

Существуют две области φ_{CN} , в которых могут быть относительно устойчивые конформации: область с φ_{CN} около -30° (*анти*-область) и область с φ_{CN} около $+150^\circ$ (*син*-область). Каждая из них занимает несколько больше 90° . Рассмотрение молекулярных моделей⁶⁰, а также расчеты, выполненные на основании результатов рентгеноструктурного анализа⁶¹, показали, что барьер между *син*- и *анти*-областями определяется в случае

пуриннуклеозидов стерическими взаимодействиями между атомом N_3 основания и атомом кислорода пентозного кольца, а в случае пириимидиннуклеозидов —

взаимодействиями между атомом кислорода 2-кетогруппы или атомом водорода при C_6 основания, с одной стороны, и атомом кислорода пентозного кольца или атомом кислорода при C_2' сахара (в случае дезоксирибонуклеозидов — атомом водорода при C_2' сахара), — с другой. Для большинства исследованных нуклеозидов и нуклеотидов предпочтительна *анти*-ориентация основания (см. табл. 3). *Син*-ориентация, как правило, стерически менее благоприятна. Более того, для пуриннуклеозидов

при выводе из плоскости сахара C_3' -атома и для пириимидиннуклеозидов при C_3' -эндо-конформации сахара существование *син*-изомеров вообще невозможно⁶¹. Однако очевидно, что в пириимидиновых $O_2,5'$ - и пуриновых $N_3,5'$ -циклонуклеозидах вследствие образования дополнительного цикла возможна только *син*-ориентация основания. Это было подтверждено рентгеноструктурным анализом⁶² (см. рис. 2). Нельзя исключить также возможности того, что необходимая стабилизация *син*-конформации достигается в некоторых случаях в полинуклеотидной цепи⁶¹ или в нуклеотидопептидах (см. разд. 12) за счет нековалентных взаимодействий.

Существует предположение, что *анти*-ориентация основания в рибонуклеозидах может стабилизироваться образованием водородной связи между $2'$ -гидроксильной группой рибозы и 2-кетогруппой пириимидина или N_3 -атомом пурина. В пользу этого предположения говорит ряд фактов: 1) УФ спектры поглощения пириимидиновых рибонуклеозидов заметно изменяются при переходе в область высокой щелочности; таких изменений не обнаружено для соответствующих нуклеозид- $2'$ -фосфатов⁶³⁻⁶⁸; 2) в рибонуклеозидах понижена основность гетероцикла по сравнению с соответствующими $2'$ -дезоксирибонуклеозидами^{63, 64, 68-70}; 3) в ИК

ТАБЛИЦА 3

Ориентация основания и сахара в нуклеозидах и нуклеотидах

Соединение	$\varphi_{CN}, ^\circ$	Ссылки на литературу
Цитидин	-18	32
5-Бромуридин	-56	34
Тимидин	-39	49
5-Бромдезоксигуанидин	-43	34
5-Иоддезоксигуанидин	-67	52
Дезоксиаденозин	-3	51
Комплекс аденозина с 5-бромгуанидином	-10 } -20 }	35
Комплекс дезоксигуанидина с 5-бромдезоксигуанидином	+138 } -61 }	54
Уридин-5'-фосфат	-43	39
Уридин-3', 5'-циклофосфат	-72, -56 *	37
Тимидин-5'-фосфат	-48	55
Цитидин-3'-фосфат	-42, 1	39
Аденозин-5'-фосфат	-18	43
Аденозин-3', 5'-циклофосфат	-5, 0, +102 *	46
Аденилил-($2' \rightarrow 5'$)-уридин	-55 }	47
остаток аденозина	-5 }	
остаток уридина		

* См. примечание к табл. 2

спектре 3', 5'-ди-О-ацетиладенозина имеется полоса поглощения, соответствующая внутримолекулярной водородной связи; такая полоса отсутствует в спектре 2', 5'-ди-О-ацетиладенозина⁷¹; 4) 2'-гидроксильная группа рибозного остатка в нуклеозидах является более кислой, чем 3'-гидроксильная группа^{67, 72-75} — это оказывает существенное влияние на ход ряда реакций: при метилировании рибонуклеозидов диазометаном

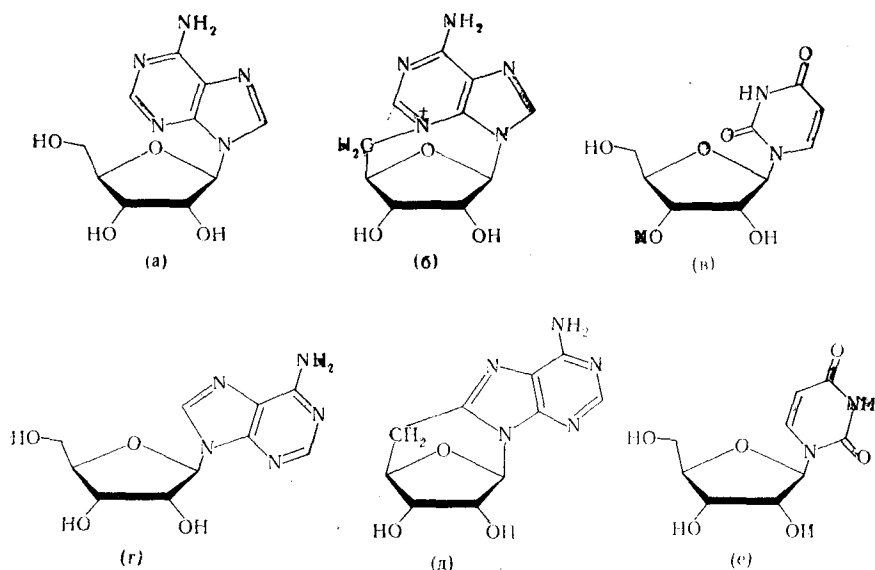
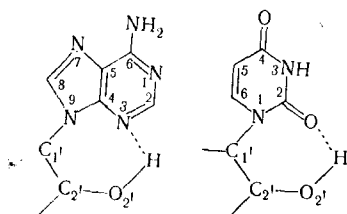


Рис. 2. Син- (а, б, в) и анти- (г, д, е) ориентация основания

преимущественно образуются 2'-О-метилнуклеозиды⁷⁶⁻⁷⁹, при тритилировании уридина⁸⁰⁻⁸³ и тозилровании 5'-О-тритилиуридина⁸⁴ 2'-гидроксильная группа атакуется заметно быстрее, чем 3'-гидроксильная группа; 5) исследование скорости гидролиза ряда рибонуклеотидов также привело Витцеля к предположению о существовании водородной связи $C_2'-O-H \cdots O=C_2$ в пиримидиновых и $C_2'-O-H \cdots N_3$ в пуриновых нуклеозидах^{85, 86}; 6) в последних работах из лаборатории Тс'о⁸⁷ результаты ЯМР спектроскопического сравнения аденозина с 2'-дезоксаденозином и 2'-О-метиладенозином и пиримидиновых рибонуклеозид-5'-фосфатов с 2-деоксирибонуклеозид-5'-фосфатами рассматриваются как указание на существование водородной связи между 2'-гидроксильной группой сахара и 2-карбонильной группой пиримидина или N_3 -атомом пурина. Последняя была постулирована Замечником при рассмотрении механизма образования аминоксил-тРНК из аминоксиладенилатов⁸⁸.



Однако имеется ряд данных, не согласующихся с предположением о существовании такой внутримолекулярной водородной связи. Так, при

изучении фотохимического присоединения воды по 5,6-двойной связи пиримидиновых нуклеозидов сравнение квантовых выходов для цитидина, 2'-дезокситидина и цитидин-2'-, 3'- и 5'-фосфатов привело к предположению, что водородная связь образуется между основанием и 5'-гидроксильной группой рибозы^{89, 90}. К такому же выводу пришли Питтс и др., обнаружившие в ИК спектрах 2', 3'-ди-О-замещенных нуклеозидов полосы поглощения, соответствующие гидроксильной группе, участвующей в образовании водородной связи с гетероциклом⁹¹. Изатт и др. обнаружили резкое понижение кислотности вторичного гидроксила как в 2'-, так и в 3'-дезоксиде (и метил-)аденозине и на основании этого высказали предположение о том, что в аденозине существует водородная связь между 2'- и 3'-гидроксильными группами^{74, 75}. Следует, однако, отметить, что это предположение не объясняет, почему более кислой является именно 2'-гидроксильная группа. Наконец, Офенганд и Шефер⁹² на основании определения констант диссоциации 5'-гидроксильной группы в α - и β -изомерах псевдоуридина (5-рибофуранозилурацил) пришли к выводу об образовании в природном β -изомере водородной связи $C_5 \cdots O - H \cdots O = C_4$.

5. Конформация *цис*-гликольной группировки $C_2'(OH) - C_3'(OH)$

Цис-гликольная группировка $C_2'(OH) - C_3'(OH)$ определяет ряд важных свойств рибонуклеозидов. Пространственное строение ее можно охарактеризовать величиной торсионного угла между связями $C_2' - O_{2'}$ и $C_3' - O_{3'}$ (φ_{00}). Торсионный угол между истинными *цис*-связями равен 0° . Однако в нуклеозидах, по крайней мере в твердом состоянии, 2'- и 3'-гидроксильные группы отклоняются от истинной *цис*-конформации, что является следствием (или причиной) искривления рибозного кольца (см. выше), и торсионный угол φ_{00} равен $43 - 54^\circ$ ^{23, 45}. Тем не менее торсионный угол φ_{00} заметно меньше для производных рибозы и других сахаров с *цис*-гликольной группировкой, чем для сахаров с *транс*-расположением 2- и 3-ОН-групп, где наименьшее значение φ_{00} равно 75° ³⁸ (но не 180° , как для истинной *транс*-конфигурации). Таким образом, в результате искажения пентозного кольца разница в значениях φ_{00} для *цис*- и *транс*-изомеров не столь велика, как можно было ожидать, однако она достаточна для того, чтобы определить принципиальные различия в реакционной способности соединений. Известно, что, в отличие от 2,3-*транс*-сахаров, производные рибозы легко вступают в реакции с образованием 2,3-циклических соединений. Описаны разнообразные 2',3'-алкилиденные (изопропилиденные, бензилиденные, *p*-анизилиденные и т. п.) производные нуклеозидов (см., напр., 1, 2, 93—101), 2',3'-ортоформаты¹⁰² и ортокарбонаты¹⁰³, 2',3'-карбонаты и тиокарбонаты^{103—112}, 2',3'-фенилборонаты^{113, 114}, 2',3'-циклофосфаты (см., напр., 1, 2, 114—119) и 2',3'-циклофосфиты нуклеозидов¹²⁰, а также 2', 3'-эпоксинуклеозидов^{1, 121, 122 *}. С легкостью образования промежуточных 2',3'-циклических производных связана высокая скорость окисления рибонуклеозидов тетраацетатом свинца, тетраокисью осмия и периодатом^{38, 123}.

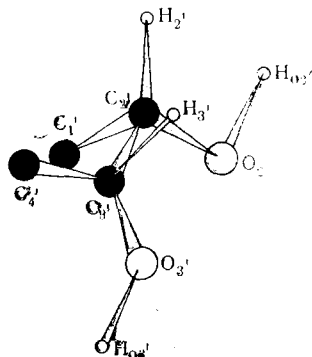


Рис. 3. Конформация *цис*-гликольной группировки (C_2' -эндо-искривление рибозного кольца)

* Из-за обилия работ в области 2', 3'-циклических производных рибонуклеозидов приведенная здесь подборка литературы по этой проблеме не претендует на полноту.

Наличием соседней *цис*-гидроксильной группы вызывается лабильность эфиров нуклеозид-3'-фосфатов в щелочной среде (см., напр., 1, 2, 93, 124–126). Выяснение такой роли 2'-ОН-группы, как известно, способствовало установлению структуры РНК (см. напр., 1, 2, 93, 127, 128).

Существует предположение, что наличие *цис*-гидроксила вносит вклад в повышение активности сложной эфирной связи в О-аминоацильных производных аденозина и тРНК вследствие образования водородной связи между 2'-гидроксильной группой и карбонильным кислородом аминокислотного остатка^{87, 128}. Для большинства рибонуклеозидов и нуклеотидов в кристаллическом состоянии найдена *tg*-конформация связей $C_2'-O_2'$ и $C_3'-O_3'$, т. е. *транс*-расположение связей $O-H(O-P$ в 3'-фосфатах) относительно связи $C_2'-C_3'$ и скошенное (*gosh*) расположение относительно связи $C_2'-C_1'$ или соответственно $C_3'-C_4'$ (см. рис. 3).

6. Конформация связи $C_4'-C_5'$

Для экзоциклической углерод-углеродной связи $C_4'-C_5'$ в кристаллическом состоянии были обнаружены три типа конформации (см. табл. 4 и рис. 4): а) *gg* — *gosh*-расположение связи $C_5'-O_5'$ относительно связи $C_4'-O_1'$ и отно-

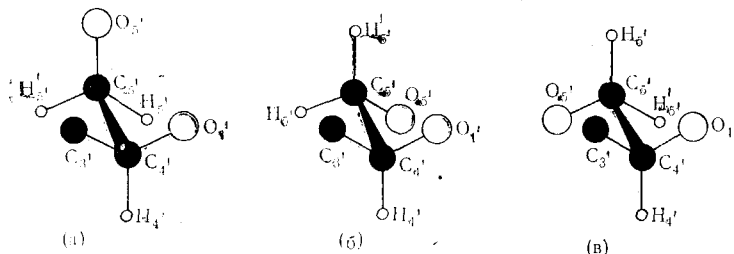


Рис. 4. Конформация связи $C_4'-C_5'$: (а) — *gg*, (б) — *gt*, (в) — *tg*

сительно связи $C_4'-C_3'$; б) *gt* — *gosh*-расположение связи $C_5'-O_5'$ относительно связи $C_4'-O_1'$ и *транс*-расположение относительно связи $C_4'-C_3'$; в) *tg* — *транс*-расположение связи $C_5'-O_5'$ относительно связи $C_4'-O_1'$ и *gosh* — относительно связи $C_4'-C_3'$.

ТАБЛИЦА 4

Конформация связи $C_4'-C_5'$ в нуклеозидах и нуклеотидах

Соединение	Конформация	$\Phi_{OO}, ^\circ$	$\Phi_{OC}, ^\circ$	Ссылки на литературу
Рибозо-5-фосфат	<i>gg</i>	67	56	31
Цитидин	<i>gg</i>			28, 32
Тимидин	<i>gt</i>			49
5-Фтордезоксисуридин	<i>tg</i>	173	68	52
Дезоксиаденозин	<i>gt</i>	68	173	23
Уридин-5'-фосфат	<i>gg</i>	54	70	36
Уридин-3', 5'-циклофосфат	<i>tg</i>	176, 174 *	63, 60 *	37
Цитидин-3'-фосфат	<i>gg</i>	75	44	39, 40
Тимидин-5'-фосфат	<i>gg</i>	60	57	55
Аденозин-5'-фосфат	<i>gg</i>	78	40	42, 43
Аденозин-3'-фосфат	<i>gt</i>	56, 7	171, 7	45
Аденилил-(2' → 5')-уридин	<i>gg</i>	73	45 }	47
остаток аденозина	<i>gg</i>	62	57 }	
остаток уридина				

* См. примечание к табл. 2.

Как показано в табл. 4, наиболее часто, по крайней мере в кристаллическом состоянии, встречается конформация *gg*. По-видимому, это связано с тем, что в ней внутримолекулярные взаимодействия между заместителем при C_5' , основанием и сахарным кольцом минимальны²¹.

7. Структура фосфатного остатка в нуклеотидах

Если 5'-гидроксильная группа этерифицирована фосфатным остатком (нуклеозид-5'-фосфаты), связь $O_5' - P$, как было найдено для кристаллов всех исследованных нуклеотидов, занимает *транс*-положение относительно связи $C_4' - C_5'$, обеспечивая тем самым наиболее протяженную форму молекулы.

Фосфатный остаток в нуклеотидах в кристаллической форме и в нейтральных растворах присутствует в виде моноаниона (это относится как к 3'-, так и к 5'-фосфатам). Для нуклеотидов, так же как для других эфиров фосфорной кислоты¹²⁹⁻¹³¹, расстояние $P-O$ оказалось заметно короче (на 0,24—0,09 Å^{23, 36, 38, 43-45}) вычисленного значения 1,71 Å¹³², причем длина связи уменьшается в направлении: $P-OR > P-OH > P-O- > P=O$. Это подтверждает наличие в эфирах фосфорной кислоты π -сопряжения между *d*-орбитами фосфора и *p*-электронами кислорода^{133, 134}. Иными словами, связи фосфор—кислород в эфирах фосфорной кислоты имеют частично характер двойной связи¹³³. Уменьшение двоевязанности между фосфором и кислородом вследствие нарушения $p\pi-d\pi$ -сопряжения приводит к существенному ослаблению фосфоэфирной связи. Это имеет место, например, в нуклеозидциклофосфатах.

8. Нуклеозидциклофосфаты

Нуклеотиды могут образовывать как пятичленные 2',3'-, так и шестичленные 3',5'-циклофосфаты.

Пятичленные фосфатные циклы напряжены^{1, 135}. Это главная причина их гораздо более высокой реакционной способности по сравнению с нециклическими эфирами^{1, 93, 135, 136}.

По-видимому, вследствие напряженности пятичленного фосфатного цикла нарушается $p\pi-d\pi$ -сопряжение между кислородом и фосфором, что и обуславливает лабильность $P-O$ -связи¹³⁴. Значительно бо́льшая устойчивость шестичленных нуклеозид-3',5'-циклофосфатов свидетельствует о меньшей напряженности их циклов. Однако из сравнения периодов полураспада в 1 *N* NaOH при 100° тимидин-3',5'-циклофосфата, в котором шестичленное фосфатное кольцо образовано с участием *транс*-ОН-групп¹³⁷, 1,2-изопропилиденксилофуранозо-3,5-циклофосфата, в котором фосфатный цикл такой же величины образован *цис*-ОН-группами^{136, 138}, и пропандиол-1,3-циклофосфата¹³⁶ (2 часа, 4 часа и 72 часа, соответственно) следует, что и в нуклеозид-3',5'-циклофосфатах фосфатный цикл напряжен, по-видимому, вследствие *транс*-расположения связей $C_4' - C_5'$ и $C_3' - O_3'$ относительно пентозного кольца. Такая конфигурация сахара приводит также к тому, что единственно возможной формой фосфатного шестичленного цикла является конформация кресла. Для осуществления ее должен измениться характер искривления фуранозного цикла, и наиболее вероятной является C_3' -*эндо*- C_4' -*экзо*-конформация^{48, 139}. Действительно, как показали исследования с помощью дифракции рентгеновских лучей, при превращении уридин-5'-фосфата в уридин-3',5'-циклофосфат конформация рибозы меняется от C_2' -*эндо*³⁶ до C_3' -*эндо*³⁷, а при превращении аденозин-5'-фосфата в аденозин-3',5'-циклофосфат—от C_3' -*эндо*⁴²⁻⁴⁴ до C_4' -*экзо*⁴⁶ (см. табл. 1). Изменение конформации пентозы влечет за собой, по-видимому, возникновение некоторого на-

пряжения в фуранозном кольце. Это является, как полагают¹³⁶, причиной понижения устойчивости гликозидной связи в нуклеозид-3',5'-циклофосфатах по сравнению с соответствующими нуклеозидами и нуклеотидами: аденозин-3',5'-циклофосфат при обработке 1 *N* NaOH при 100° дает аденин, в то время как аденозин в этих условиях устойчив¹⁴⁰; тимидин-3',5'-циклофосфат полностью отщепляет тимин при обработке 0,1 *N* HCl при 100° в течение 5 мин., в то время как тимидин-5'-фосфат в этих условиях устойчив более 3 часов¹³⁶.

Интересной особенностью строения нуклеозид-3',5'-циклофосфатов является наличие в одной кристаллической ячейке двух молекул с различной конформацией гликозидной связи: для уридин-3',5'-циклофосфата обе молекулы имеют *анти*-ориентацию основания относительно сахара³⁷, но для аденозин-3',5'-циклофосфата одна молекула имеет *анти*-, а другая — *син*-ориентацию⁴⁶ (это до сих пор только второй, после дезоксигуанозина, случай *син*-ориентации, см. табл. 3).

9. Внутримолекулярные взаимодействия в эфирах нуклеотидов

При рассмотрении иных, чем циклофосфаты, эфиров нуклеотидов обращает на себя внимание зависимость свойств фосфодиефирной группы в эфирах от характера заместителей в сахарном кольце. Так, известно, что *p*-нитрофениловые эфиры различных нуклеотидов гидролизуются по-разному: *p*-нитрофениловые эфиры тимидин-3'- и 5'-фосфатов гидролизуются щелочью через промежуточное образование тимидин-3',5'-циклофосфата^{141, 142}, в то время как для *p*-нитрофенилового эфира уридин-5'-фосфата этого не обнаружено¹⁴². Различный механизм гидролиза, возможно, связан с различной конформацией пентозного кольца, которая может способствовать или препятствовать сближению 3'-гидроксильной и 5'-фосфатной групп. В кристаллах уридин-5'-фосфата и тимидин-5'-фосфата действительно обнаружена различная конформация углеводного цикла (см. табл. 1). К сожалению, материала еще недостаточно, чтобы подтвердить или опровергнуть это предположение.

Взаимодействие гидроксильной и фосфатной групп, находящихся в *транс*-положении, имеет место и в других производных нуклеотидов. Описано, например, образование аденозин-3',5'-циклофосфата при гидролизе АТФ гидроокисью бария¹⁴⁰ и превращение метилового эфира тимидил-((3'→N)-фенилаланина в тимидин-3',5'-циклофосфат при стоянии в диметилформамиде¹⁴³ (подробнее см. в разд. 12).

10. Динуклеозидфосфаты и олигонуклеотиды

Особую группу эфиров нуклеотидов составляют динуклеозидфосфаты. Исследование аденил-((2'→5')-уридина методом дифракции рентгеновских лучей обнаружило почти параллельное расположение двух оснований и их частичное перекрывание³⁹ (рис. 5).

Исследование растворов динуклеозидфосфатов, ди-, три- и олигонуклеотидов показывает, что параллельное расположение оснований наиболее вероятно для этих соединений и в растворе.

Олигонуклеотиды обладают рядом специфических свойств: 1) при деградации олигонуклеотидов возрастает УФ поглощение (гиперхромный эффект) (см. напр.,^{1, 89, 144, 145}); 2) спектрополяриметрия олигонуклеотидов обнаруживает сильный эффект Коттона, не равный сумме эффектов составляющих мононуклеотидов, и независимость удельного вращения олигонуклеотидов от концентрации^{16, 17, 145–152}; 3) эффект циркулярного дихроизма олигонуклеотидов не совпадает с суммой эффектов состав-

ляющих нуклеотидов ^{153, 154}; 4) спектры флуоресценции ди- и полинуклеотидов и составляющих их мономеров качественно различны ^{155, 156}; 5) в ЯМР спектрах дезоксиолigonуклеотидов наблюдается сдвиг сигналов для протонов тимина по сравнению с мононуклеотидом ¹⁵⁷.

Перечисленные факты указывают на наличие сильного взаимодействия между основаниями в олигонуклеотидах, появляющегося уже в динуклеозидфосфатах. Возможны несколько типов такого взаимодействия,

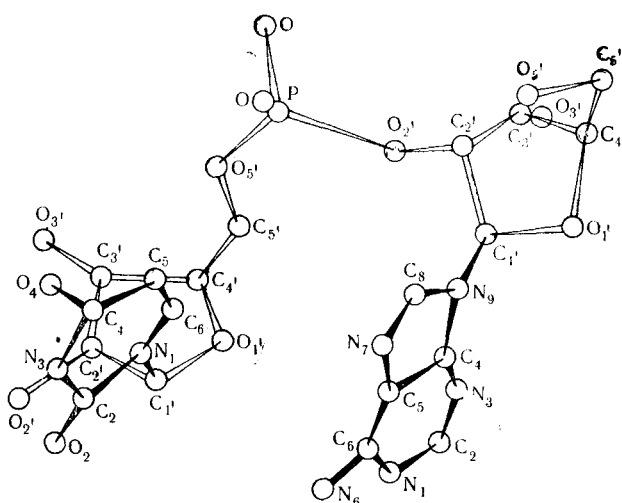


Рис. 5. Модель молекулы аденил- $(2' \rightarrow 5')$ -уридина по данным рентгеноструктурного анализа ⁴⁷

например, горизонтальная ассоциация с помощью водородных связей или вертикальная ассоциация вследствие π -электронных взаимодействий гетероциклических систем. Так как динуклеозидфосфаты — производные диметиламинопурина — обладают при всех значениях pH большим гиперхромизмом, чем производные аденина ¹⁵⁸, то маловероятно, что взаимодействие оснований определяется водородными связями. Тем более, что для диадениловой кислоты, например, было показано, что энергия взаимодействия оснований превышает энергию водородных связей ^{157, 159}. Далее, исчезновение гиперхромизма у таких динуклеотидов, как аденил- $(3' \rightarrow 5')$ -уридин и аденил- $(3' \rightarrow 5')$ -цитидин-3'-фосфат, при насыщении 5:6-двойной связи при гидрировании ¹⁶⁰ или фотолизе ¹⁶¹ указывает на то, что важную роль во взаимодействии оснований играют их π -электронные системы.

Наконец, исследование водных растворов мононуклеотидов, нуклеозидов и пуриновых и пиримидиновых оснований с помощью ЯМР спектроскопии ^{162–165}, осмометрии ^{166, 167} и ультрацентрифугирования ¹⁶⁹ обнаружило высокую степень ассоциации их молекул. При этом было установлено, что взаимодействие между пуриновыми производными более благоприятно, чем между пуриновыми и пиримидиновыми производными, а последнее, в свою очередь, более благоприятно, чем взаимодействие между пиримидиновыми производными. На основании этого был сделан вывод, что механизм ассоциации состоит в укладывании оснований в стопку друг на друга в результате гидрофобных взаимодействий π -электронных систем оснований. Интересно, что в случае гуанозин-3'- и 5'-фосфатов и изогуанозина [2-окси-6-амино-9- $(\beta$ -D-рибофуранозил)-пурин] происходит,

как предполагают, укладывание в стопку водородносвязанных тетрамеров с возникновением спиралеподобной упорядоченной структуры, что приводит к образованию геля¹⁶⁹⁻¹⁷⁵.

Ассоциаты мономеров в растворе не разрушаются молекулами воды. Это объясняют наличием сильных водородных связей вода — вода. В диметилформамиде же и диметилсульфоксиде такие водородные связи не образуются в результате отсутствия доноров протонов в молекулах этих растворителей. Однако, являясь акцепторами протонов, они образуют водородные связи с молекулами растворенного вещества, разрушая его упорядоченную структуру¹⁶³.

Взаимодействие оснований имеет место, и даже в большей степени, чем между мономерами, в олиго- и полинуклеотидах. В них взаимодействие между π -электронами соседних циклов создает, по существу, новую электронную систему, которая и определяет специфические оптические свойства всей молекулы^{1, 176, 177}.

Изучение замещенных в гетероциклическом кольце гомогенных олиго- и полинуклеотидов (см., напр.,^{159, 178-187}) показало, что стабильность вторичной структуры полимеров несколько увеличивается при замещении, хотя в то же время способность к образованию двойной спирали с комплементарной цепью может быть понижена. По-видимому, в стабилизации вторичной структуры ДНК и РНК определяющую роль играют гидрофобные взаимодействия, скорее чем водородные связи (см., напр.,^{187, 188}, а также обзор¹⁸⁹) *.

О существенной роли гидрофобных сил в стабилизации вторичной структуры полинуклеотидов свидетельствует также обнаруженная ассоциация пуринов с динуклеотидами¹⁹⁰: по-видимому, внедряясь между основаниями динуклеотида, пуриновые основания в результате π -взаимодействия с каждым из них как бы стягивают их, образуя структуру, подобную трехслойному сэндвичу. В связи с этим представляется интересным предположение¹⁹¹ о том, что возможной причиной биологической активности печально знаменитого лекарственного препарата талидомида является сходство его с нуклеозидами в отношении способности к гидрофобным взаимодействиям, в результате которого молекулы талидомида могут внедряться между основаниями ДНК, нарушая ее вторичную структуру.

11. Динуклеозидпирофосфаты и нуклеотидные коферменты

Очевидно, что взаимодействие π -электронных систем оснований может иметь место и в P^1 , P^2 -динуклеозидпирофосфатах. Кроме того, так как пирофосфатное звено более гибкое, чем фосфатное, оно обеспечивает, по-видимому, более тесное сближение и максимальное перекрытие оснований, что проявляется в больших значениях гиперхромных эффектов для этих соединений по сравнению с динуклеотидами^{150, 163}.

Аналогичное явление наблюдается и для других динуклеозидпирофосфатов, в частности для нуклеотидных коферментов (флавинадениндинуклеотид, никотинамидадениндинуклеотид). При гидролитическом или ферментативном расщеплении пирофосфатной связи в ФАД и НАДН УФ поглощение возрастает¹⁹²⁻¹⁹⁷, что свидетельствует о взаимодействии оснований. Это подтверждается также данными флуороскопии. Найдено, что никотинамид в составе восстановленного НАД флуоресцирует не

* В настоящем обзоре не рассматриваются взаимодействия между основаниями, возникающие путем образования водородных связей по принципу комплементарности, так как по этому вопросу имеется очень большая литература, в том числе обзорная, тесно связанная с изучением структуры и функций нуклеиновых кислот, что выходит за пределы обсуждаемой здесь проблемы.

только при 340 мк, как в свободном состоянии, но также при 260 мк^{198–201}, причем флуоресценция гасится добавлением в раствор НАДН метанола²⁰². Напротив, рибофлавин в составе ФАД флуоресцирует слабее, чем в свободном состоянии²⁰³. Кроме того, флуоресценция рибофлавина гасится при добавлении в его раствор пуринов^{204–206}, фенолов²⁰⁷ и хлор-тетрациклина²⁰⁸. По аналогии с олигонуклеотидами было постулировано взаимодействие π -электронных систем аденина и восстановленного ни-

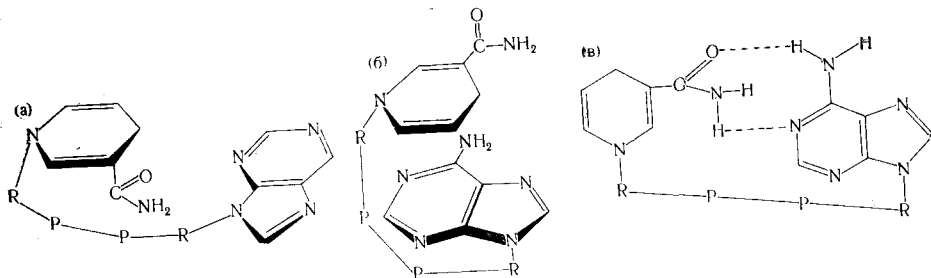


Рис. 6. Возможные формы молекулы НАДН: (а) — развернутая, (б) — с вертикальной ассоциацией оснуданий, (в) — с водородными связями²¹³

котинамида или, соответственно, рибофлавина, сопровождающееся переносом энергии^{195, 202, 205} (см. также обзор²⁰⁹). Образование такого комплекса подтверждается спектрополяризацией^{210, 211} и ЯМР спектроскопией^{212, 213}, причем одновременно показано, что π -комплексная форма НАДН может находиться в равновесии с развернутой, а при некоторых ферментативных реакциях происходит полное π -вертывание молекулы кофермента²¹³ (см. рис. 6).

В пользу предположения о π -электронном характере взаимодействия оснований в нуклеотидкоферментах говорят также некоторые результаты исследования их аналогов: перенос энергии, хотя и значительно менее эффективный, чем для НАДН, обнаружен для никотинамидурацилдинуклеотида²¹⁴ и никотинамидфенилдинуклеотида²¹⁵, в то время как для никотинамидпуридиндинуклеотида²¹⁶, никотинамид-6- β -оксиэтиламино)-пуридиндинуклеотида²¹⁷ и никотинамид- α -адениндинуклеотида²¹⁸ обнаружен почти столь же эффективный перенос энергии, как для НАДН. Но, с другой стороны, отсутствие флуоресценции у восстановленного никотинамидгипоксантидиндинуклеотида²¹⁹ и уменьшение флуоресценции при алкилировании рибофлавина в ФАД по N₃^{220–222} могут рассматриваться как свидетельства в пользу значительной роли водородных связей во внутримолекулярной ассоциации оснований в нуклеотидкоферментах.

Скорее всего, внутримолекулярные комплексы в НАДН и ФАД обуславливаются взаимодействием π -электронных систем оснований и стабилизируются водородными связями.

Внутримолекулярный комплекс, в образовании которого главную роль играют водородные связи, имеет место в другом типе нуклеотидных коферментов — нуклеозиддифосфатах.

При рассмотрении различных природных НДФС^{223, 224} было отмечено определенное соответствие между структурой гетероциклического основания и строением остатка ненуклеозидного моносахарида. Кроме того, существует связь между характером остатка нуклеотида в НДФС и типом биохимических реакций, в которых участвует этот НДФС^{223, 224}. Так как НДФС вступают в реакции по ненуклеозидному моносахаридному остатку, было высказано предположение, что специфичность биохимических

мических свойств НДФС связана с конформацией моносахарида, которая, в свою очередь, определяется структурой нуклеозида. Нуклеозидный остаток может оказывать влияние на структуру моносахаридного остатка в результате образования внутримолекулярных связей с ним, и наиболее вероятными представляются водородные связи. Обнаруженное во всех НДФС экваториальное расположение гидроксильных групп при $C_{2''}$ и $C_{3''}$ моносахарида позволило предположить, что такие связи могут

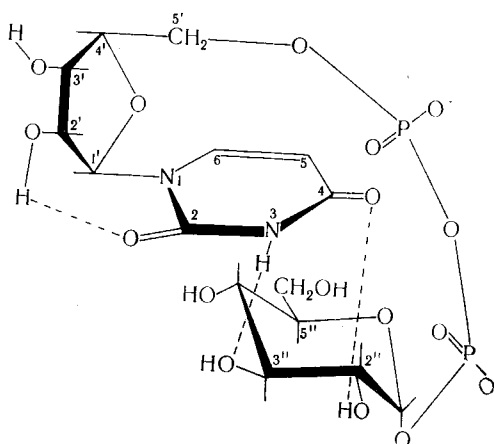


Рис. 7. Схематическое изображение пространственного строения молекулы УДФГ²²³

возникать между группой —NH—CO— в положении 3:4 основания и гидроксильными группами при $C_{2''}$ и $C_{3''}$ сахара (см., например, рис. 7). Для уридин-ДФС возможна также водородная связь между 2-кетогруппой основания и 2'-ОН рибозы, как и в других урацилрибонуклеотидах (см. выше).

Исследование активности различных синтетических аналогов уридиндифосфатглюкозы в типичных для нее ферментативных реакциях^{225–230} подтверждает предположение о том, что специфичность биохимических реакций с участием НДФС определяется простран-

ственным строением его молекулы, так как все активные аналоги УДФГ содержат одинаковую группировку NH—C=O (или NH—C=S) в 3:4 положении гетероцикла и, следовательно, могут образовывать однотипные внутримолекулярные комплексы.

Химическое подтверждение гипотезы о внутримолекулярной связи гетероцикла и сахара в НДФС было получено при изучении скорости каталитического гидрирования (родий на окиси алюминия) 5:6-двойной углерод-углеродной связи в УДФГ и УМФ-5'²¹⁷. Значительное замедление реакции для УДФГ по сравнению с УМФ может рассматриваться как свидетельство существенного различия в стерической доступности двойной связи в этих соединениях для присоединения водорода или фиксации на поверхности катализатора, которое является следствием их конформационных различий. Аналогичные результаты получены для 6-аза-УДФГ и 6-аза-УМФ, в то время как N-метил-УДФГ, ЦДФГ и 2'-дезоксид-УДФГ гидрируются с такой же скоростью, как соответствующие им нуклеозидмонофосфаты²³¹. Уменьшение различий в скоростях гидрирования УДФГ и УМФ в присутствии 7М мочевины может быть вызвано разрушением водородных связей, ослабляющим специфическую пространственную структуру молекулы²³¹.

Взаимодействие основания с удаленными от него частями молекулы обеспечивается в НДФС, так же как в ФАД и НАДН, наличием дифосфатного звена, достаточно гибкого вследствие присущей простым связям свободы вращения. Такое же звено имеется и в других нуклеотидных коферментах, в том числе в нуклеозидди- и трифосфатах, среди которых наибольшего внимания заслуживают, несомненно, аденозин-5'-дифосфат (АДФ) и аденозин-5'-трифосфат (АТФ). Сент-Дьердь принадлежит предположение²³² (см. также в более поздних книгах, переведенных на русский язык^{233, 234}) о таком «складывании» молекулы АТФ, при кото-

ром концевые фосфатные группы находятся в непосредственной близости от атомов N₆ и N₇ аденина и образуют с ним четырехзубое хелатное соединение, используя Mg²⁺ в качестве соединительного звена. Ряд косвенных данных ИК^{235–237} и УФ спектроскопии²³⁸ и спектрополяриметрии^{239, 240} был истолкован в пользу этого предположения, так что оно получило широкое признание, и предложенную Сент-Дьердьи для АТФ структуру можно найти во многих книгах и обзорах (см., напр.,^{241, 242}). Тем не менее попытки получить прямые доказательства взаимодействия Mg²⁺ с аденином не увенчались успехом^{243–252}, хотя нет сомнения, что комплекс Mg²⁺ с фосфатными группами действительно образуется^{243–255} (см. также обзор²⁵⁶). В связи с этим высказывается предположение о том, что в АДФ и АТФ фосфатные группы (через Mg²⁺) и аденин образуют отдельные связи с ферментом^{244, 256, 257}. Вместе с тем, следует отметить, что для комплексов АТФ с Zn²⁺^{245, 247} и Cu²⁺^{245, 246} на основании ЯМР спектроскопии не отрицается структура типа предложенной Сент-Дьердьи, т. е. хелатный комплекс иона металла с атомами азота аденина и двумя фосфатными группами, причем найдено, что для цинкового комплекса более вероятно участие β- и γ-фосфатных групп, а для медного — α- и β-фосфатных групп. Кроме того, установлено, что Mn²⁺ может взаимодействовать с аденином и с α-, β- и γ-фосфатными остатками²⁴⁵. По-видимому, Mn²⁺ может образовывать комплексы различного типа. Предполагают, что такая способность иона Mn²⁺ объясняет, почему он может заменять как Mg²⁺, так и Zn²⁺ в ферментативных реакциях, специфических к ионам этих металлов²⁴⁵. Подробно конформация возможных комплексов АДФ и АТФ с ионами металлов рассматривается в обзорах^{258, 259}.

12. Внутримолекулярные взаимодействия в нуклеотидопептидах

Аминокислотные и пептидные производные нуклеотидов с ковалентной связью между фрагментами — нуклеотидопептиды — играют важную роль в процессах метаболизма (см. напр.,^{260, 261}). К сожалению, с химической точки зрения эти соединения изучены еще недостаточно. Исключение составляют нуклеотидопептиды с фосфоамидной нуклеотидопептидной связью, для которых систематически исследуется взаимосвязь между строением и химическими свойствами^{262–268}.

Полифункциональная природа нуклеотидо-(P→N)-пептидов и большое количество одинарных связей, допускающее самое разнообразное взаиморасположение отдельных частей молекулы, создают богатые возможности для приобретения молекулой нуклеотидопептида такой конформации, которая выгодна для внутримолекулярных взаимодействий непосредственно не связанных между собой групп. Влияние этих взаимодействий на свойства нуклеотидопептидной связи может быть очень велико вследствие специфических свойств как атома фосфора (способность к *pπ-dπ*-сопряжению с атомами, непосредственно с ним не связанными), так и атома азота (склонность к протонизации не только за счет протонов среды, но и за счет протонодонорных группировок той же молекулы).

Исследование нуклеотидил-(5'→N)-аминокислот, в которых аминокислотный остаток не содержит дополнительных функциональных групп, показало, что 5'-фосфоамидная связь в них легко гидролизует в кислой среде и устойчива в нейтральной и щелочной средах^{262–266}, как и в простых амидах фосфорной кислоты и ее эфиров. Однако в слабо кислой среде (рН 2,5–5) гидролитическая устойчивость фосфоамидной связи зависит от характера гетероциклического основания нуклеотида^{262, 263}. Рассмотрение структуры нуклеотидил-(5'→N)-аминокислот привело к

предположению, что взаимодействие основания с фосфоаминокислотным остатком осуществляется водородными связями, как например, на рис. 8. Хотя для нуклеотидов, как было показано на стр. 227, типична *анти*-ориентация основания, возможно, что в данном случае (схемы а, б и г) затраты на преодоление барьера между *анти*- и *син*-областями компенсируются за счет образования водородных связей.

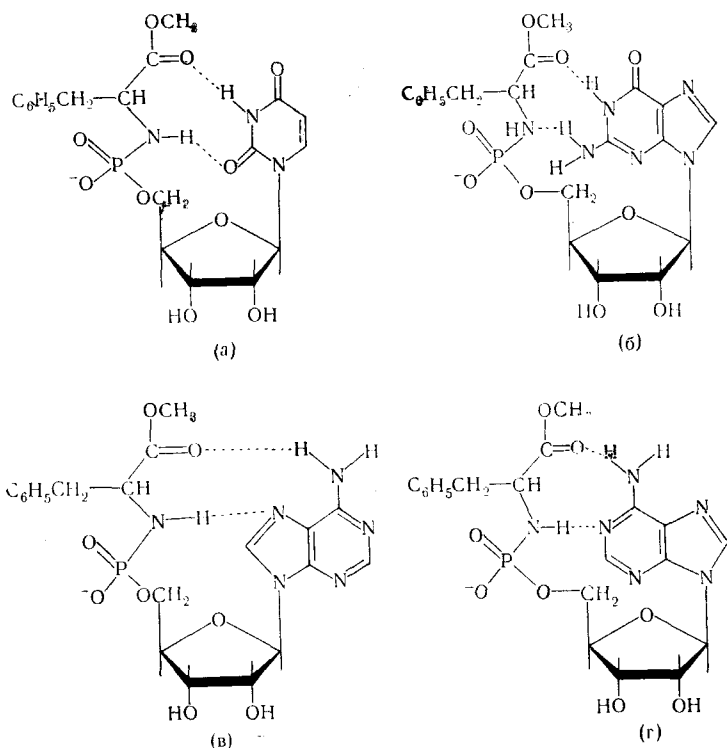


Рис. 8. Схемы возможных водородных связей для метиловых эфиров уридил-5'-(5'→N)-фенилаланина (а)²⁶², гуанил-5'-(5'→N)-фенилаланина (б)²⁶³ и аденил-5'-(5'→N)-фенилаланина (в)²⁶⁴ или (г)

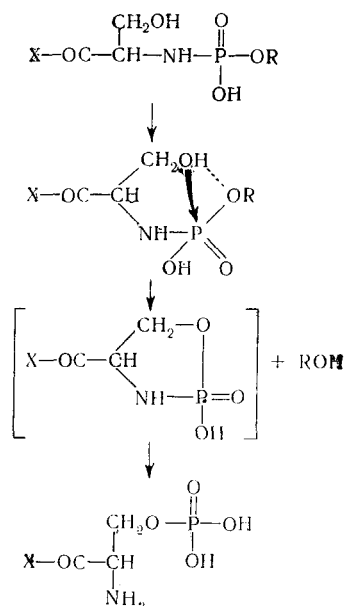
Некоторое подтверждение предложенных структур было получено с помощью ИК и УФ спектроскопии²⁶², но более подробные сведения о внутримолекулярных взаимодействиях в нуклеотидо-(P→N)-пептидах дало исследование их гидролитической устойчивости^{262–268}. Как видно из рис. 8, в аминокислотном производном гуанозин-5'-фосфата (б) фосфоамидный азот протонирован уже в нейтральной среде, чем, по-видимому, и объясняется большая скорость его гидролиза по сравнению с производным уридин-5'-фосфата. С другой стороны, аденил-5'-(5'→N)-фенилаланин и уридил-5'-(5'→N)-фенилаланин по своей устойчивости близки, как и следовало ожидать на основании структур (а), (в) и (г) рис. 8. Уменьшение различий в скорости гидролиза фосфоамидной связи в фенилаланиновых производных различных нуклеотидов при повышении температуры²⁶³ и при увеличении кислотности среды^{262, 263} может быть следствием разрушения специфических водородных связей.

При наличии в молекуле нуклеотидопептида других функциональных групп свойства фосфоамидной связи могут изменяться. Так, введение в 3'(2')-положение нуклеотидного фрагмента дополнительной фосфатной

группы приводит к некоторой стабилизации Р—N-связи, но только при рН ниже 2,5²⁶⁶. По-видимому, в этих условиях 5'-фосфоамидная и 3' (2')-фосфатная группы сближены, чему может способствовать *gg*-конформация связи C_{5'}—O_{5'} и C_{2'}-*эндо*-искривление рибозного кольца. Однако при более высоких значениях рН это взаимодействие нарушается вследствие электростатического отталкивания диссоциированных фосфатных групп.

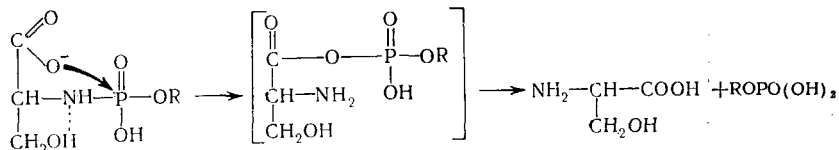
При переходе от аминокислотных к пептидным производным устойчивость фосфоамидной связи также несколько увеличивается. Изучение скорости гидролиза ряда производных гуанозин-5'-фосфата при рН ниже 2,0 и различных температурах привело к выводу, что решающим фактором такого повышения устойчивости является возникновение пространственных затруднений при протонизации фосфоамидного азота с участием протонов среды²⁶³. Если, однако, протонизация осуществляется внутримолекулярно, например, с участием аминогруппы гуанина (см. рис. 8), удлинение пептидной цепи не приводит к сколько-нибудь значительному изменению устойчивости фосфоамидной связи²⁶³.

Рассмотрение гидролитической устойчивости нуклеотидо-(5'→N)-пептидов свидетельствует о том, что заметные различия в устойчивости фосфоамидной связи являются тем не менее только количественными. Однако при наличии в пептидном звене функциональных групп возможен принципиально новый тип расщепления нуклеотидопептидной связи. Так, нуклеотидил-(5'→N)-аминокислоты со свободной карбоксильной группой²⁶⁷ и эфиры нуклеотидил-(5'→N)-серинов со свободной гидроксильной группой серина²⁶⁸ при обработке кислотой гидролизуются не только по Р—N-связи с образованием нуклеотида и аминокислоты, но и по фосфоэфирной связи с образованием нуклеозида и фосфоаминокислоты. Один из возможных механизмов гидролиза по фосфоэфирной связи включает внутримолекулярную протонизацию фосфоамидного узла и образование в качестве промежуточного соединения циклического производного фосфоаминокислоты:



ROH — нуклеозид, X — пептид или OCH₃.

Внутримолекулярное взаимодействие гидроксильной группы серина с фосфоамидной группировкой обнаруживается также в щелочной среде, что приводит к расщеплению фосфоамидного узла (как известно, простые фосфоамиды в щелочной среде устойчивы)²⁶⁸. Это расщепление может протекать по-разному в зависимости от того, какие группы принимают участие в каталитическом акте. Если это совместное участие гидроксильной и карбоксильной групп, то расщепляется фосфоамидная связь (карбоксильная группа может быть соседней и удаленной, например, концевой карбоксил в три- и тетрапептидном производном нуклеотида, где N-концевой аминокислотой является серин):

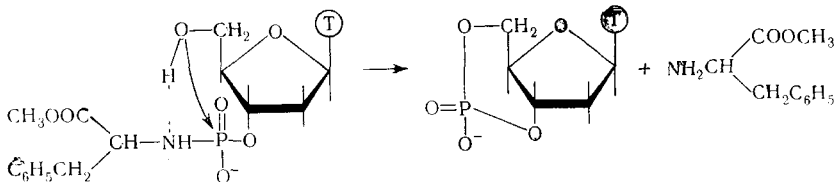


RON — нуклеозид.

Если же в каталитическом акте принимает участие только гидроксильная группа, то при щелочной деструкции расщепляется фосфоэфирная связь по механизму кислотного гидролиза, описанному выше, с образованием промежуточного пятичленного циклофосфата, который расщепляется в щелочной среде до N-фосфопептида.

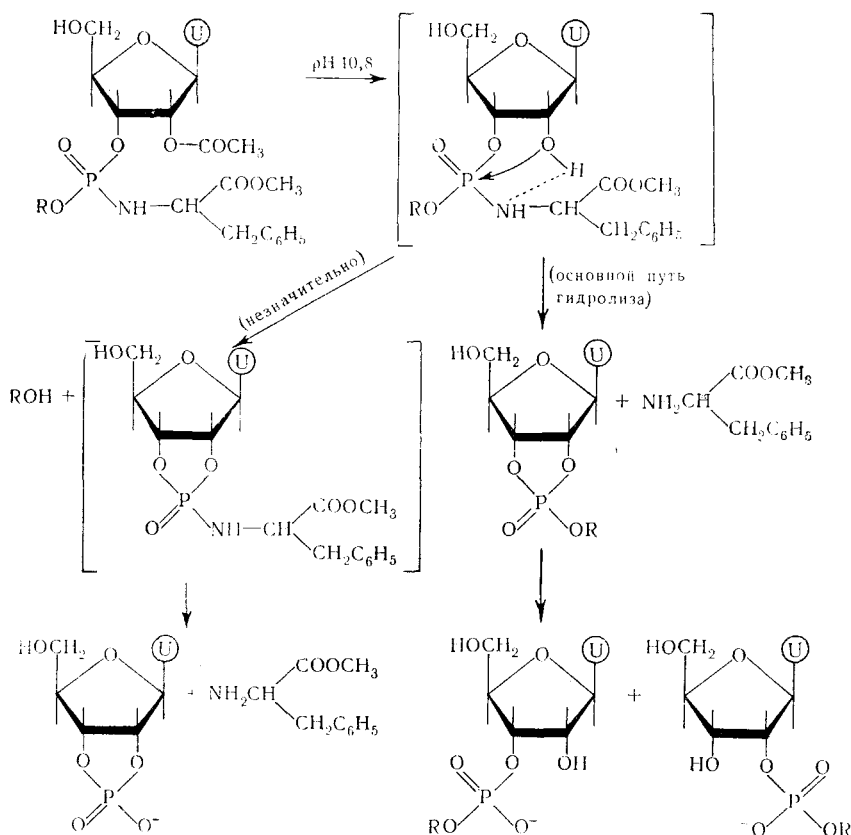
Таким образом, для нуклеотидил-(5'→N)-аминокислот с дополнительной функциональной группой в аминокислотном фрагменте характерна структура со своеобразной «петлей» на аминокислотном конце молекулы.

Электрофильно-нуклеофильный внутримолекулярный катализ, аналогичный описанному выше для сериновых производных нуклеозид-5'-фосфатов, наблюдается также в эфире тимидил- (3'→N)-фенилаланина, который при стоянии или при кратковременном нагревании в диметилформамиде превращается в тимидин-3',5'-циклофосфат с одновременным элиминированием аминокислоты¹⁴³:



В данном случае нуклеофильному замещению у атома фосфора может способствовать конформация молекулы, в которой амидный азот оказывается сближенным с 5'-гидроксильной группой дезоксирибозы (*gg*-конформация связи C_{5'}—O_{5'} и C_{3'}-*эндо*-искривление пентозного кольца). Аналогичное внутримолекулярное воздействие удобно расположенной по отношению к фосфоамидной группировке гидроксильной группы наиболее полно проявляется в рибонуклеозид-3'-фосфоаминокислотах, где положение гидроксила вблизи P—N-связи фиксировано кольцом сахара. Действительно, в то время как аминокислотные производные тимидин-3'- и тимидин-5'-фосфата ведут себя в водном растворе практически одинаково независимо от положения фосфоаминокислотного остатка, являясь устойчивыми соединениями при pH > 3¹⁴³, аминокислотные производные рибонуклеозид-3'-фосфатов могут существовать в этих условиях только в том случае, если блокирована 2'-гидроксильная группа²⁶². Роль 2'-гидроксила в этом явлении подтверждается образованием нуклеозид-2',3'-циклофосфата при удалении ацетильной или тетрагидро-

пиранильной 2'-защитных групп в условиях, когда изолированная P—N-связь устойчива (рН 10,8 и рН 4,5, соответственно) ²⁶². Аналогичное явление было обнаружено в аминокислотных производных динуклеозидфосфатов по межнуклеотидному фосфору: в то время как тимидилил-(3'→5')-тимидино-(P→N)-фенилаланин вполне устойчив в нейтральном водном растворе, его рибоаналог—2'-О-ацетилуридил-(3'→5')-уридино-(P→N)-фенилаланин гидролизуетс немедленно по освобождении 2'-гидроксила:



где R = H для уридил-(3'→N)-фенилаланина и R — остаток нуклеозида для уридил-(3'→5')-уридино-(P→N)-фенилаланина.

Сведения, полученные при изучении синтетических нуклеотидопептидов, говорят о том, что благодаря многочисленным конформационным возможностям отдельные фрагменты нуклеотидопептида могут взаимодействовать между собой. Следствием этого является широкое варьирование реакционной способности нуклеотидопептидов. Это позволяет сделать по крайней мере два вывода. Во-первых, при установлении типов ковалентных связей в природных нуклеотидопептидах следует очень осторожно использовать данные, полученные при изучении относительно простых структур. Это отчетливо проявляется на примере фосфоамидной связи, которая, будучи устойчивой в нейтральной и щелочной средах в простых соединениях, становится лабильной в тех же условиях, если конформация молекулы такова, что по соседству с фосфоамидной группой находятся протонодонорные группы. С другой стороны, при наличии функциональных групп, способных осуществлять внутримолеку-

лярный катализ гидролиза и пространственно сближенных с фосфоамидной группировкой, и в кислой среде может наблюдаться аномальный ход расщепления фосфоамидного узла: вместо разрыва фосфоамидной связи (как в простых амидах нуклеотидов) происходит миграция фосфатного остатка с нуклеозида на пептид. Таким образом, на основании структуры продуктов гидролиза нуклеотидопептидов не могут быть сделаны однозначные выводы о характере связи в нативном соединении. Во-вторых, сведения о внутримолекулярных взаимодействиях в нуклеотидо-(P→N)-пептидах показывают, что уже в довольно простой молекуле, состоящей из мононуклеотидного и пептидного фрагментов, заложены большие возможности саморегуляции: сближение фосфоамидной группировки с донором или акцептором протонов приводит к повышению или, соответственно, понижению ее реакционной способности. Это наводит на мысль о возможности существования аналогичных механизмов активации фосфатного остатка мононуклеотидов в таких биосинтетических процессах, как образование межнуклеотидных связей в присутствии специфических ферментов. Фермент-субстратный комплекс фосфоамидного типа при соответствующей конформации может осуществлять перенос мононуклеотидного остатка на 3'-гидроксильную группу концевой нуклеотида формирующейся полинуклеотидной цепи. Легкость регуляции такого процесса путем подачи протона на фосфоамидный азот или удаления его делает эту гипотезу довольно вероятной.

Можно ожидать, что изучение внутримолекулярных взаимодействий в более сложных нуклеотидопептидах, в частности в олигонуклеотидо-полипептидах заданной структуры (с заданной последовательностью мононуклеотидов и аминокислот), поможет пролить свет на важнейшую проблему современной молекулярной биологии — проблему взаимного «узнавания» между специфическими нуклеиновыми кислотами и белками-ферментами.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Микельсон, Химия нуклеозидов и нуклеотидов, «Мир», М., 1966.
2. Н. К. Кочетков, И. В. Торгов, М. М. Ботвинник, Химия природных соединений, Изд. АН СССР, М., 1961.
3. З. А. Шабарова, Усп. химии., **28**, 369 (1959).
4. R. U. Lemieux, M. Hoffer, *Canad. J. Chem.*, **39**, 110 (1961).
5. R. U. Lemieux, Там же, **39**, 116 (1961).
6. M. J. Robins, R. K. Robins, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 4934 (1965).
7. R. J. Cushley, K. A. Watanabe, J. J. Fox, *Chem. Comm.*, **1966**, 598.
8. R. J. Cushley, K. A. Watanabe, J. J. Fox, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 394 (1967).
9. A. R. Walwick, W. R. Roberts, C. A. Dekker, *Proc. Chem. Soc.*, **1959**, 84.
10. C. Y. Lin, D. W. Urry, H. Eyring, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **17**, 642 (1964).
11. T. R. Emerson, T. L. V. Ulbricht, *Chem. a. Ind.*, **1964**, 2129.
12. T. L. V. Ulbricht, J. P. Jennings, P. M. Scopes, W. Klyne, *Tetrahedron Letters*, **1964**, 695.
13. T. L. V. Ulbricht, T. R. Emerson, R. J. Swan, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **19**, 643 (1965).
14. G. D. Fasman, C. Lindblow, L. Gooseman, *Biochemistry*, **3**, 1015 (1964).
15. M. R. Lamborg, P. C. Zamecnik, T.-K. Li, I. H. Kagi, B. L. Vallee, Там же, **4**, 63 (1965).
16. Л. Г. Коренсва, Г. А. Дворкин, В. В. Смолянинов, ДАН, **162**, 451 (1965).
17. M. M. Warshaw, I. Tinoco, *J. Mol. Biol.*, **13**, 54 (1965).
18. T. Nishimura, B. Shimizu, I. Iwai, *Biochim. biophys. acta*, **157**, 221 (1968).
19. I. Frič, J. Smejkal, J. Farkaš, *Tetrahedron Letters*, **1966**, 75.
20. T. R. Emerson, R. J. Swan, T. L. V. Ulbricht, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **22**, 505 (1966).
21. K. C. Murdock, R. B. Angier, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 3758 (1962).

22. J. E. Kilpatrick, K. S. Pitzer, R. Spitzer, Там же, **69**, 2483 (1947).
23. M. Sundaralingam, L. H. Jensen, J. Mol. Biol., **13**, 930 (1965).
24. L. S. Bartell, J. Am. Chem. Soc., **81**, 3497 (1959).
25. Е. Мюллер, Новые воззрения в органической химии, ИЛ, 1960, стр. 639.
26. C. D. Jardetzky, J. Am. Chem. Soc., **82**, 229 (1960).
27. M. Spencer, Acta crystallogr., **12**, 59 (1959).
28. S. Furberg, Acta chem. scand., **4**, 751 (1950).
29. C. D. Jardetzky, J. Am. Chem. Soc., **83**, 2919 (1961).
30. C. D. Jardetzky, Тр. V МБК. Рефераты секционных заседаний, т. I, Изд. АН СССР, М., 1961, стр. 163.
31. S. Furberg, A. Mostad, Acta chem. scand., **16**, 1627 (1962).
32. S. Furberg, C. S. Peterson, C. Romming, Acta crystallogr., **18**, 313 (1965).
33. S. Furberg, Там же, **3**, 325 (1950).
34. J. Iball, C. H. Morgan, H. R. Wilson, Nature, **209**, 1230 (1966).
35. A. E. V. Haschemeyer, H. M. Sobell, Acta crystallogr., **18**, 525 (1965).
36. E. Shefter, K. N. Trueblood, Там же, **18**, 1067 (1965).
37. C. L. Coulter, Science, **159**, 888 (1968).
38. M. Sundaralingam, J. Am. Chem. Soc., **87**, 599 (1965).
39. M. Sundaralingam, L. H. Jensen, J. Mol. Biol., **13**, 914 (1965).
40. E. Alver, S. Furberg, Acta chem. scand., **13**, 910 (1959).
41. E. Alver, S. Furberg, Там же, **11**, 188 (1957).
42. J. Kraut, L. H. Jensen, Nature, **186**, 798 (1960).
43. J. Kraut, L. H. Jensen, Acta crystallogr., **16**, 79 (1963).
44. D. M. Brown, G. D. Fasman, D. I. Magrath, A. R. Todd, W. Cochran, M. M. Wolfson, Nature, **172**, 1184 (1953).
45. M. Sundaralingam, Acta crystallogr., **21**, 495 (1966).
46. K. Watenpugh, J. Dow, L. H. Jensen, Science, **159**, 206 (1968).
47. E. Shefter, M. Barlow, R. Sparks, K. Trueblood, J. Am. Chem. Soc., **86**, 1872 (1964).
48. C. D. Jardetzky, Там же, **84**, 62 (1962).
49. P. Tollin, H. R. Wilson, D. W. Young, Nature, **217**, 1148 (1968).
50. B. Pruden, W. Snipes, W. Cordy, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **53**, 917 (1965).
51. N. Camerman, J. Trotter, Acta crystallogr., **18**, 203 (1965).
52. N. Camerman, J. Trotter, Science, **144**, 1348 (1964).
53. D. G. Watson, D. J. Sutor, P. Tollin, Acta crystallogr., **19**, 111 (1965).
54. A. E. V. Haschemeyer, H. M. Sobell, Там же, **19**, 125 (1965).
55. K. N. Trueblood, P. Horn, V. Luzzati, Там же, **14**, 965 (1961).
56. H. P. M. Fromageot, B. E. Griffin, C. B. Reese, J. E. Sulston, D. R. Trentham, Tetrahedron, **22**, 705 (1966).
57. S. C. Nyburg, X-Ray Analysis of Organic Structures, Acad. Press, N. Y.—London, 1961, стр. 251.
58. S. B. Hendricks, J. Phys. Chem., **45**, 65 (1941).
59. D. O. Jordan, В кн. The Nucleic Acids, ed. E. Chargaff and J. N. Davidson, vol. 1, Acad. Press, N. Y., 1955, стр. 453.
60. J. Donohue, K. N. Trueblood, J. Mol. Biol., **2**, 363 (1960).
61. A. E. V. Haschemeyer, A. Rich, Там же, **27**, 369 (1967).
62. J. Zussman, Acta crystallogr., **6**, 504 (1953).
63. J. J. Fox, D. Shugar, Biochim. biophys. acta, **9**, 369 (1952).
64. J. J. Fox, L. F. Cavalieri, N. Chang, J. Am. Chem. Soc., **75**, 4315 (1953).
65. J. J. Fox, J. F. Codington, N. C. Yung, L. Kaplan, J. O. Lampen, Там же, **80**, 5155 (1958).
66. J. J. Fox, D. Van Praag, I. Wempen, I. L. Doerr, L. Cheong, J. E. Knoll, M. L. Eidinoff, A. Bendich, G. B. Brown, Там же, **81**, 178 (1959).
67. R. Kuhn, H. Sobotka, Ztschr. phys. Chem., **109**, 65 (1924).
68. S. Lewin, D. A. Humphreys, J. Chem. Soc. (B), **1966**, 210.
69. L. Grossman, S. S. Levine, W. S. Allison, J. Mol. Biol., **3**, 47 (1961).
70. P. O. P. Ts'o, S. A. Rapaport, F. J. Bullum, Biochemistry, **5**, 4153 (1966).
71. A. M. Michelson, Ann. Review Biochem., **30**, 133 (1961).
72. P. A. Levene, L. W. Bass, H. S. Simms, J. Biol. Chem., **70**, 229 (1926).
73. P. A. Levene, H. S. Simms, L. W. Bass, Там же, **70**, 243 (1926).
74. R. M. Izatt, L. D. Hansen, J. H. Rytting, J. J. Christensen, J. Am. Chem. Soc., **87**, 2760 (1965).
75. R. M. Izatt, J. H. Rytting, L. D. Hansen, J. J. Christensen, Там же, **88**, 2641 (1966).
76. A. D. Broom, R. K. Robins, Там же, **87**, 1145 (1965).
77. T. A. Khwaja, R. K. Robins, Там же, **88**, 3640 (1966).
78. D. M. G. Martin, C. B. Reese, G. F. Stephenson, Biochemistry, **7**, 1406 (1968).

79. J. B. Gin, C. A. Dekker, Там же, **7**, 1413 (1968).
80. J. J. Fox, I. Wempfen, Adv. Carbohydrate Chem., **14**, 283 (1959).
81. N. C. Yung, J. J. Fox, J. Am. Chem. Soc., **83**, 3060 (1961).
82. J. Zemlička, Coll. Czech. Chem. Comm., **29**, 1734 (1964).
83. J. F. Codington, J. J. Fox, Carbohydrate Res., **3**, 124 (1966).
84. D. M. Brown, D. B. Parihar, A. Todd, S. Varadarajan, J. Chem. Soc., **1958**, 3028.
85. H. Witzel, Lieb. Ann., **635**, 182 (1960).
86. H. Witzel, в кн. Progress in Nucleic Acids Research, ed. J. N. Davidson, W. E. Cohn, vol. 2, Acad. Press, N. Y.—London, 1963, стр. 221.
87. M. P. Schweizer, A. D. Broom, P. O. P. Ts'o, D. P. Hollis, J. Am. Chem. Soc., **90**, 1042 (1968).
88. P. C. Zamecnik, Biochem. J., **85**, 257 (1962).
89. Д. Шугар, в сб. Нуклеиновые кислоты, под ред. Э. Чаргаффа и Дж. Дэвидсона, ИЛ, М., 1962, стр. 34.
90. K. L. Wierzchowsky, D. Shugar, Biochim. biophys. acta, **25**, 355 (1957).
91. J. Piřha, S. Chládek, J. Smřt, Coll. Czech. Chem. Comm., **28**, 1622 (1963).
92. J. Ofengand, H. Schaefer, Biochemistry, **4**, 2832 (1965).
93. Г. Корана, Новые направления в химии биологически важных эфиров фосфорной кислоты, «Мир», М., 1964.
94. P. A. Levene, R. S. Tipson, J. Biol. Chem., **106**, 113 (1934).
95. P. A. Levene, R. S. Tipson, J. Biol. Chem., **121**, 131 (1937).
96. S. Chládek, J. Smřt, Coll. Czech. Chem. Comm., **28**, 1301 (1963).
97. J. Zemlička, S. Chládek, Tetrahedron Letters, **1965**, 3057.
98. J. Zemlička, S. Chládek, A. Holý, J. Smřt, Coll. Czech. Chem. Comm., **31**, 3198 (1966).
99. C. B. Reese, J. E. Sulston, Proc. Chem. Soc., **1964**, 214.
100. A. Hampton, J. C. Fratantoni, P. M. Carroll, S.-C. Wang, J. Am. Chem. Soc., **87**, 5481 (1965).
101. N. Bagett, A. B. Foster, J. M. Webber, D. Lipkin, B. E. Phillips, Chem. a. Ind., **1965**, 136.
102. M. Jarman, C. B. Reese, Там же, **1964**, 1493.
103. W. V. Ruyle, T. Y. Shen, A. A. Potchett, J. Org. Chem., **30**, 4353 (1965).
104. G. M. Tener, H. G. Khorana, J. Am. Chem. Soc., **79**, 437 (1957).
105. G. M. Tener, H. G. Khorana, Там же, **80**, 1999 (1958).
106. G. M. Tener, H. G. Khorana, Chem. a. Ind., **1957**, 562.
107. G. M. Tener, R. S. Wright, H. G. Khorana, J. Am. Chem. Soc., **78**, 506 (1956).
108. G. M. Tener, R. S. Wright, H. G. Khorana, Там же, **79**, 441 (1957).
109. R. S. Wright, G. M. Tener, H. G. Khorana, Там же, **80**, 2004 (1958).
110. R. S. Wright, G. M. Tener, H. G. Khorana, Chem. a. Ind., **1957**, 954.
111. A. Hampton, A. W. Nichol, Biochemistry, **5**, 2076 (1966).
112. A. Hampton, A. W. Nichol, J. Org. Chem., **32**, 1688 (1967).
113. А. М. Юркевич, И. И. Колодкина, Н. А. Преображенский, ДАН, **164**, 828 (1965).
114. А. М. Юркевич, Л. С. Варшавская, И. И. Колодкина, Н. А. Преображенский, ЖОХ, **37**, 2002 (1967).
115. K. H. Scheit, F. Cramer, Tetrahedron Letters, **1964**, 2765.
116. R. L. C. Brimacombe, B. E. Griffin, J. A. Haimes, W. J. Haslam, C. B. Reese, Biochemistry, **4**, 2452 (1965).
117. M. van Montagu, J. Stockx, Bull. soc. chim. Belges, **74**, 341 (1965).
118. M. Ikehara, J. Tazawa, J. Org. Chem., **31**, 819 (1966).
119. K. Keck, U. Hagen, Naturwiss., **53**, 304 (1966).
120. A. Holý, F. Šorm, Coll. Czech. Chem. Comm., **31**, 1562 (1966).
121. N. C. Yung, J. J. Fox, J. Am. Chem. Soc., **83**, 3060 (1961).
122. I. L. Doerr, J. F. Codington, J. J. Fox, J. Org. Chem., **30**, 467 (1965).
123. K. Burton, Biochem. J., **104**, 686 (1967).
124. G. A. R. Johnston, Tetrahedron Letters, **1967**, 2679.
125. C. B. Reese, D. R. Trentham, Там же, **1965**, 2467.
126. B. E. Griffin, M. Jarman, C. B. Reese, J. E. Sulston, D. R. Trentham, Biochemistry, **5**, 3638 (1966).
127. А. Тодд, в сб. Перспективы развития органической химии, под ред. А. Тодда, ИЛ, М., 1959, стр. 174.
128. D. M. Brown, A. Todd, в кн. The Nucleic Acids, ed. E. Chargaff, J. N. Davidson, vol. I, Acad. Press, N. Y., 1955, стр. 409.
129. G. H. McGallum, J. M. Robertson, G. A. Sim, Nature, **184**, 1863 (1959).
130. J. Kraut, Acta crystallogr., **14**, 1146 (1961).
131. Y. Kyogoku, Y. Iitaka, Там же, **21**, 49 (1966).
132. V. Schomaker, D. R. Stevenson, J. Am. Chem. Soc., **63**, 37 (1941).

133. D. W. J. Cruickshank, J. Chem. Soc., **1961**, 5486.
134. R. L. Collin, J. Am. Chem. Soc., **88**, 3281 (1966).
135. Э. Косовер, Молекулярная биохимия, «Мир», М., 1964.
136. H. G. Khorana, G. M. Tener, K. S. Wright, J. G. Moffatt, J. Am. Chem. Soc., **79**, 430 (1957).
137. G. M. Tener, H. G. Khorana, R. Markham, E. H. Pol, Там же, **80**, 6223 (1958).
138. J. G. Moffatt, H. G. Khorana, Там же, **79**, 1194 (1957).
139. M. Smith, G. I. Drummond, H. G. Khorana, Там же, **83**, 698 (1961).
140. D. Lipkin, W. H. Cook, R. Markham, Там же, **81**, 6193 (1959).
141. M. Smith, Там же, **86**, 3586 (1964).
142. A. F. Turner, H. G. Khorana, Там же, **81**, 4651 (1959).
143. В. А. Баканова, З. А. Шабарова, М. А. Прокофьев, Химия прир. соедин., **1966**, 35.
144. H. Simpkins, E. G. Richards, Biochemistry, **6**, 2513 (1967).
145. G. H. Beaven, E. R. Holiday, E. A. Johnson, см. ¹²⁸ стр. 493.
146. J. T. Yang, T. Samejima, J. Am. Chem. Soc., **85**, 4039 (1963).
147. D. N. Holcomb, I. Tinoco, Biopolymers, **3**, 121 (1965).
148. C. R. Cantor, I. Tinoco, J. Mol. Biol., **13**, 65 (1965).
149. M. M. Warshaw, C. A. Bush, I. Tinoco, Biochem. Biophys. Res. Comm., **18**, 633 (1965).
150. J. N. Vournakis, H. A. Scheraga, G. W. Rushizky, H. A. Sober, Biopolymers, **4**, 33 (1966).
151. Y. Inoue, S. Aoyagi, K. Nakanishi, Tetrahedron Letters, **1967**, 3575.
152. Y. Inoue, S. Aoyagi, K. Nakanishi, J. Am. Chem. Soc., **89**, 5701 (1967).
153. Г. Б. Завильгельский, Т. В. Венкстерн, А. А. Баев, ДАН, **166**, 978 (1966).
154. Г. Б. Завильгельский, Л. Ли, Молек. биология, **1**, 323 (1967).
155. J. Eisinger, M. Guéron, R. G. Shulman, T. Yamane, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **55**, 1015 (1966).
156. M. Guéron, R. G. Shulman, J. Eisinger, Там же, **56**, 814 (1966).
157. K. H. Scheit, F. Cramer, A. Franke, Biochim. biophys. acta, **145**, 21 (1967).
158. A. M. Michelson, Там же, **55**, 841 (1962).
159. K. E. van Holde, J. Brahm, A. M. Michelson, J. Mol. Biol., **12**, 726 (1965).
160. C. Janion, D. Shugar, Acta biochim. Polon., **7**, 309 (1960).
161. K. L. Wierzchowsky, D. Shugar, Там же, **7**, 377 (1960).
162. M. P. Schweizer, S. I. Chan, P. O. P. Ts'o, J. Am. Chem. Soc., **87**, 5241 (1965).
163. S. I. Chan, M. P. Schweizer, P. O. P. Ts'o, G. K. Helmkamp, Там же, **86**, 4182 (1964).
164. O. Jardetzky, Biopolymers, Symp. No. 1, **1964**, 501.
165. G. K. Helmkamp, N. S. Kondo, Biochim. biophys. acta, **145**, 27 (1967).
166. P. O. P. Ts'o, I. S. Melvin, A. C. Olson, J. Am. Chem. Soc., **85**, 1289 (1963).
167. P. O. P. Ts'o, S. I. Chan, Там же, **86**, 4176 (1964).
168. K. E. van Holde, G. P. Rossetti, Biochemistry, **6**, 2189 (1967).
169. M. Gellert, M. N. Lipsett, D. R. Davies, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **48**, 2013 (1962).
170. W. L. Peticolas, J. Chem. Phys., **40**, 1463 (1964).
171. H. T. Miles, J. Frazier, Biochim. biophys. acta, **79**, 216 (1964).
172. F. B. Howard, H. T. Miles, J. Biol. Chem., **240**, 801 (1965).
173. R. V. Ravindranathan, H. T. Miles, Biochim. biophys. acta, **94**, 603 (1965).
174. P. K. Sarkar, J. T. Yang, Biochem. Biophys. Res. Comm., **20**, 346 (1965).
175. R. B. Homer, S. F. Mason, Chem. Comm., **1966**, 332.
176. J. Ladik, Acta Phys. Acad. Sci. Hung., **11**, 239 (1960).
177. J. Drobni, V. Kleinwachter, Biochem. Biophys. Res. Comm., **4**, 366 (1965).
178. R. B. Inman, R. L. Baldwin, J. Mol. Biol., **5**, 172 (1962).
179. M. Chamberlin, R. L. Baldwin, Там же, **7**, 334 (1963).
180. R. B. Inman, R. L. Baldwin, Там же, **8**, 452 (1964).
181. J. H. Chen, F. F. Davis, Biochem. Biophys. Res. Comm., **20**, 124 (1965).
182. W. Szer, Там же, **20**, 182 (1965).
183. C. W. Abell, L. A. Rosini, M. R. Ramseur, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **54**, 608 (1965).
184. J. Massoulié, A. M. Michelson, F. Pochon, Biochim. biophys. acta, **114**, 16 (1966).
185. F. Pochon, A. M. Michelson, Там же, **145**, 321 (1967).
186. A. M. Michelson, C. Monny, Там же, **149**, 88 (1967).
187. G. D. Fasman, C. Lindblow, E. Seaman, J. Mol. Biol., **12**, 630 (1965).

188. В. И. Полтев, Б. И. Сухоруков, *Биофизика*, **12**, 763 (1967).
189. Т. И. Тихоненко, в сб. Биосинтез белка и нуклеиновых кислот, под ред. А. С. Спирина, «Наука», М., 1965, стр. 260.
190. S. I. Chan, R. W. Bangerter, H. H. Peter, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **55**, 720 (1966).
191. S. Furberg, *Acta chem. Scand.*, **19**, 266 (1965).
192. O. Warburg, W. Christian, *Biochem. Ztschr.*, **296**, 122 (1938).
193. O. Warburg, W. Christian, Там же, **298**, 150 (1938).
194. A. Kornberg, W. E. Pricer, *J. Biol. Chem.*, **182**, 763 (1950).
195. L. G. Whitby, *Biochem. J.*, **54**, 437 (1953).
196. J. M. Siegel, G. A. Montgomery, R. M. Bock, *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 288 (1959).
197. P. M. Bayley, *Abstr. of 5th Internat. Symp. of the Chemistry of Natural Products*, London, July 1968, E 23.
198. G. Weber, *Nature*, **180**, 1409 (1957).
199. G. Weber, *J. Chim. Phys.*, **55**, 878 (1958).
200. S. F. Velick, *J. Biol. Chem.*, **233**, 1455 (1958).
201. И. И. Гольдштейн, Д. И. Рошупкин, В. П. Скулачев, *Биохимия*, **31**, 927 (1966).
202. Е. А. Нейфах, Л. А. Тумерман, С. Фрид, *Биофизика*, **12**, 799 (1967).
203. O. A. Bessey, A. H. Lowry, R. H. Love, *J. Biol. Chem.*, **180**, 755 (1949).
204. H. Weil-Malherbe, *Biochem. J.*, **40**, 363 (1946).
205. G. Weber, Там же, **47**, 114 (1950).
206. K. Burton, Там же, **48**, 458 (1951).
207. K. Yagi, J. Okuda, T. Ozawa, K. Okada, *Biochem. Ztschr.*, **328**, 492 (1957).
208. K. Yagi, J. Okuda, T. Ozawa, K. Okada, *Science*, **124**, 273 (1956).
209. H. Beinert, в кн. *The Enzymes*, ed. P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrback, vol. II, Acad. Press, N. Y.—London, 1960, стр. 339.
210. I. Listowsky, S. Englard, J. J. Betheil, S. Seifert, *Biochemistry*, **5**, 2548 (1966).
211. R. T. Simpson, B. L. Vallee, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **22**, 712 (1966).
212. W. L. Meyer, H. R. Hahler, R. H. Baker, *Biochim. biophys. acta*, **64**, 353 (1962).
213. O. Jardetzky, N. G. Wade-Jardetzky, *J. Biol. Chem.*, **241**, 85 (1966).
214. J. E. Wilson, *Biochemistry*, **5**, 1351 (1966).
215. C. Woenckhaus, M. H. Volz, *Ber.*, **99**, 1712 (1966).
216. G. Pfeleiderer, C. Woenckhaus, K. Scholz, H. Feller, *Lieb. Ann.*, **675**, 205 (1965).
217. H. G. Windmueller, N. O. Kaplan, *J. Biol. Chem.*, **236**, 2716 (1961).
218. G. Pfeleiderer, C. Woenckhaus, M. Nelböck-Hochstetter, *Lieb. Ann.*, **690**, 170 (1965).
219. S. Shifrin, N. O. Kaplan, *Nature*, **183**, 1529 (1959).
220. B. M. Chassy, D. B. McCormick, *Biochemistry*, **4**, 2612 (1965).
221. N. O. Kaplan, Тр. V МБК, симп. IV, Изд. АН СССР, М., 1961, стр. 3.
222. J. C. M. Tsibris, D. B. McCormick, L. D. Wright, *Biochemistry*, **4**, 504 (1965).
223. Н. К. Кочетков, Э. И. Будовский, В. Н. Шибаев, *Биохимия*, **28**, 741 (1963).
224. Н. К. Кочетков, Э. И. Будовский, В. Н. Шибаев, *Усп. биол. химии*, **6**, 108 (1964).
225. Н. Д. Габриэлян, М. А. Новикова, Г. Л. Жданов, *ДАН*, **151**, 1453 (1963).
226. Н. Д. Габриэлян, А. В. Венкина, *ДАН*, **156**, 1379 (1964).
227. Н. Д. Габриэлян, А. В. Венкина, *ДАН*, **165**, 439 (1965).
228. I. Goldemberg, *Biochim. biophys. acta*, **56**, 357 (1962).
229. M. Rabinowitz, I. Goldberg, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1801 (1963).
230. H. Ankel, E. Ankel, D. S. Feingold, *Biochemistry*, **5**, 1864 (1966).
231. Н. К. Кочетков, Э. И. Будовский, В. Н. Шибаев, Г. И. Елисеева, *ДАН*, **159**, 605 (1964).
232. A. Szent-Györgyi, в кн. *Enzymes, Units of Biological Structure and Function*, ed. O. H. Gaebler, Acad. Press, N. Y., 1956, стр. 393.
233. А. Сент-Дьердьи, *Биоэнергетика*, Физматгиз, М., 1960, стр. 87.
234. А. Сент-Дьердьи, *Введение в субмолекулярную биологию*, «Мир», М., 1964, стр. 108.
235. A. Epp, T. Ramasarma, L. R. Wetter, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 724 (1958).
236. F. L. Khalil, T. L. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 5113 (1964).
237. I. Feldman, E. Keil, Там же, **87**, 3281 (1965).
238. K. Hotta, J. Brahm, M. Morales, Там же, **83**, 997 (1961).
239. B. H. Levedahl, T. W. James, *Biochim. biophys. acta*, **21**, 298 (1956).

240. W. G. McCormick, B. H. Levedahl, Там же, **34**, 303 (1959).
241. Б. Пюльман, А. Пюльман, Квантовая биохимия, «Мир», М., 1965, стр. 302.
242. M. R. Atkinson, R. K. Morton, в кн. Comparative Biochemistry, ed. M. Florin, H. S. Mason, vol. 2, Acad. Press, N. Y., 1960, стр. 1.
243. A. E. Martell, G. Schwarzenbach, Helv. chim. acta, **39**, 653 (1956).
244. G. G. Hammes, G. E. Maciel, J. S. Waugh, J. Am. Chem. Soc., **83**, 2394 (1961).
245. M. Cohn, T. R. Hughes, J. Biol. Chem., **237**, 176 (1962).
246. P. W. Schneider, H. Brintzinger, H. Erlenmeyer, Helv. chim. acta, **47**, 992 (1964).
247. J. A. Happe, M. Morales, J. Am. Chem. Soc., **87**, 2077 (1966).
248. G. L. Eichhorn, P. Clark, E. D. Becker, Biochemistry, **5**, 345 (1966).
249. E. Walaas, Acta chem. scand., **12**, 528 (1958).
250. H. Brintzinger, Biochim. biophys. acta, **77**, 343 (1963).
251. P. George, R. C. Phillips, R. J. Rutman, Feder. Proc., **23**, 265 (1964).
252. R. C. Phillips, P. George, R. J. Rutman, J. Am. Chem. Soc., **88**, 2631 (1966).
253. C. H. Oestreich, M. M. Jones, Biochemistry, **5**, 2226 (1966).
254. C. H. Oestreich, M. M. Jones, Там же, **5**, 3151 (1966).
255. C. H. Oestreich, M. M. Jones, Там же, **6**, 1515 (1967).
256. R. M. Bock, в кн. The Enzymes, ed. P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrbäck, vol. VII, Acad. Press, N. Y.—London, 1963, стр. 1.
257. M. Ikehara, E. Ohtsuka, S. Kitagawa, Y. Tomomura, Biochim. biophys. acta, **82**, 74 (1964).
258. R. J. P. Williams, в кн. The Enzymes, ed. P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrbäck, vol. I, Acad. Press, N. Y., 1959, стр. 391.
259. R. Phillips, Chem. Rev., **1966**, 501.
260. А. А. Богданов, Усп. соврем. биол., **55**, 321 (1963).
261. А. А. Богданов, Р. С. Шакулов, в сб. Нуклеиновые кислоты, «Мир», М., 1965, стр. 245.
262. О. Е. Воробьев, З. А. Шабарова, М. А. Прокофьев, Вестник МГУ, сер. хим., **1964**, № 6, 66.
263. Н. И. Соколова, З. А. Стумбравичуте, П. П. Пурыгин, З. А. Шабарова, М. А. Прокофьев, ДАН, **174**, 722 (1967).
264. Т. С. Рябова, З. А. Шабарова, Вестник МГУ, сер. хим., **1965**, № 5, 98.
265. Е. П. Савельев, Т. С. Рябова, И. П. Белецкая, З. А. Шабарова, ДАН, **155**, 1457 (1964).
266. А. Б. Соловьева, Н. Н. Преображенская, Н. И. Соколова, З. А. Шабарова, ЖОХ, **37**, 431 (1967).
267. Е. П. Савельев, Н. Н. Преображенская, З. А. Шабарова, М. А. Прокофьев, Химия прир. соед., **1967**, 121.
268. Е. П. Савельев, Б. А. Юodka, З. А. Шабарова, М. А. Прокофьев, Вестник МГУ, сер. хим., **1967**, № 5, 128.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова