



УДК 577.152.143\*4'133

## НУКЛЕОТИДЫ, КОФЕРМЕНТЫ, ФОСФОРНЫЕ ЭФИРЫ

## XXXVI. СИНТЕЗ КОФЕРМЕНТА МОНОАМИНООКСИДАЗЫ

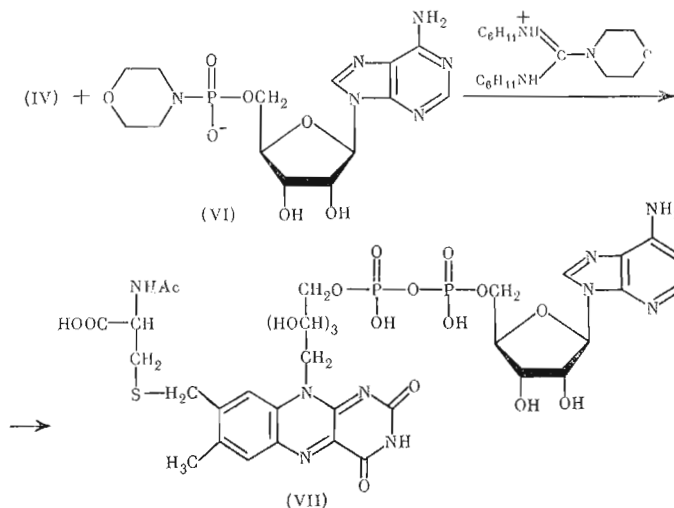
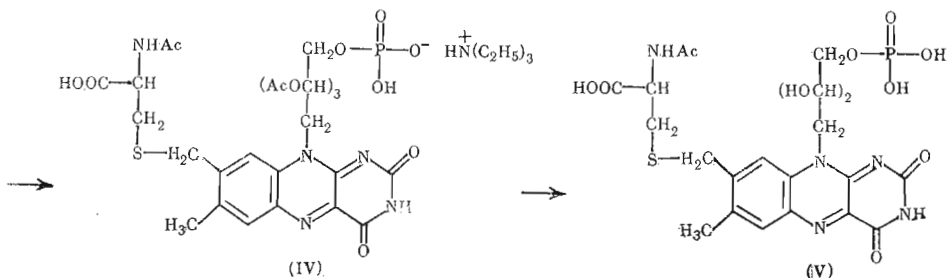
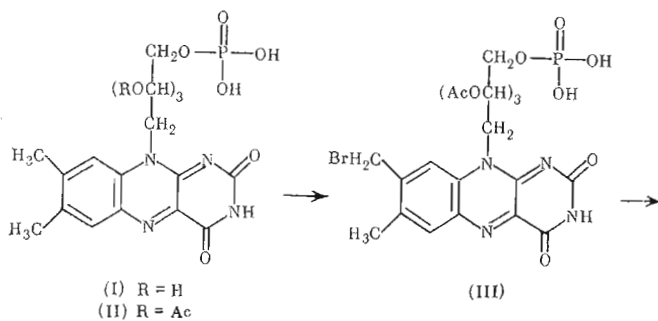
*Жиллина Т. А., Березовский В. М.**Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва*

Реакцией  $8\alpha$ -бром-2',3',4'-триацетил-FMN с N-ацетил-L-цистеином получен  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN. Конденсацией триэтиламмониевой соли  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-2',3',4'-триацетил-FMN и 4-морфолин-N,N'-дидециклогексилкарбоксамидиниевой соли морфолида АМР синтезирован  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD — ацетилкофермент моноаминоксидазы. Структура полученных соединений подтверждена ИК-, УФ- и видимыми спектрами поглощения, спектрами флуоресценции и КД.

В 1953—1955 гг. Поволоцкая и Букин открыли новый ковалентный тип связи простетической группы флавопротеидов с апоферментом на примере сукцинатдегидрогеназы животного и растительного происхождения [1—3]. Позднее было установлено, что коферментом сукцинатдегидрогеназы (КФ 1.3.99.1) является  $8\alpha$ -(N<sup>r</sup>-гистидино)флавиадениндинуклеотид [4—6]. Такой же ковалентный тип связи был обнаружен в моноаминоксидазе (КФ 1.4.3.4) [7—9], в активный центр которой входит  $8\alpha$ -(цистеин-S-ил)флавиадениндинуклеотид [7—9]. Жесткий кислотный гидролиз моноаминоксидазы приводит к  $8\alpha$ -(цистеин-S-ил)рибофлавиону [7—9], который в 1971 г. синтезирован взаимодействием  $8\alpha$ -бром-2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина с гидрохлоридом L-цистеина и последующим гидролизом ацетильных групп рибитильной боковой цепи [10].  $8\alpha$ -(Цистеин-S-ил)-FAD находится также в цитохроме c-552 Chromatium [11, 12] и цитохроме c-553 *Chlorobium thiosulfatophilum* [13, 14].

В настоящей работе мы предлагаем путь синтеза кофермента моноаминоксидазы с защищенной аминокислотной группой —  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII) и его предшественника —  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN (V), — исходя из FMN (I) (см. схему). Первоначально ацелированием FMN (I) получают 2',3',4'-три-O-ацетил-FMN (II), который селективным радикальным бромированием превращают в  $8\alpha$ -бром-2',3',4'-три-O-ацетил-FMN (III) [15, 16]. Бромид (III) затем вводят в реакцию с N-ацетил-L-цистеином. Ранее для  $8\alpha$ -(цистеин-S-ил)рибофлавина со свободной аминогруппой цистеинового остатка была обнаружена способность к легкому расщеплению гидролитическим путем и на свету [17]. В то же время оказалось, что блокирование аминогруппы цистеинового остатка ацелированием придает  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)рибофлавиону устойчивость к гидролизу и окислению [17]. Поэтому для реакции с  $8\alpha$ -бром-2',3',4'-триацетил-FMN (III) мы использовали N-ацелированный L-цистеин, а не гидрохлорид L-цистеина. В результате взаимодействия соединения (III) с N-ацетил-L-цистеином в диметилформамиде в присутствии триэтиламина в атмосфере азота мы выделили из реакционной массы смесь флавинов, содержащую, по данным ТСХ (см. «Экспериментальную часть»), необходимый продукт (IV) в виде триэтиламмониевой соли. В смеси флавинов обнаружена и триэтиламмониевая соль промежуточного продукта синтеза — 2',3',4'-три-O-ацетил-FMN (II).

Водный раствор смеси флавинов имеет pH ~ 2,5; при стоянии раствора (через 18 ч) на хроматограмме появляется пятно продукта с более низкой



подвижностью, что указывает на гидролитическое отщепление ацетильных групп в положениях 2',3' и 4' флавина (IV). Смесь флавинов в водном растворе мы подвергли фракционированию на сефадексе G-10; при этом также наблюдалось гидролитическое отщепление 2',3',4'-O-ацетильных групп, в результате чего происходило превращение флавина (IV) в 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN (V). В отличие от флавина (IV) мононуклеотид (V) вступает в реакцию с уксусным ангидридом в пиридине (при этом полученный продукт имеет хроматографическую подвижность, аналогичную подвижности производного (IV) — см. «Экспериментальную часть»). Мы полагаем, что нуклеотид (V) является соединением, полностью дезацелированным по полиоксиспиральной цепи, так как его нагревание в аммиачной среде не приводит к дальнейшим изменениям свойств соединения. Спектр поглощения мононуклеотида (V) в УФ- и видимой области (фосфатный буфер, pH 7,0) подобен спектру FMN и рибофлавина и отличается лишь гипсохромным сдвигом максимума второй полосы поглощения (от 373 до 365 nm), что характерно для 8 $\alpha$ -заме-

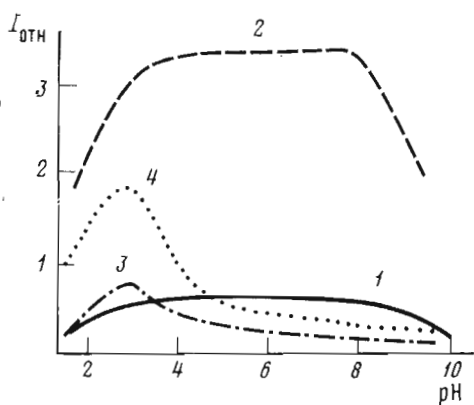


Рис. 1

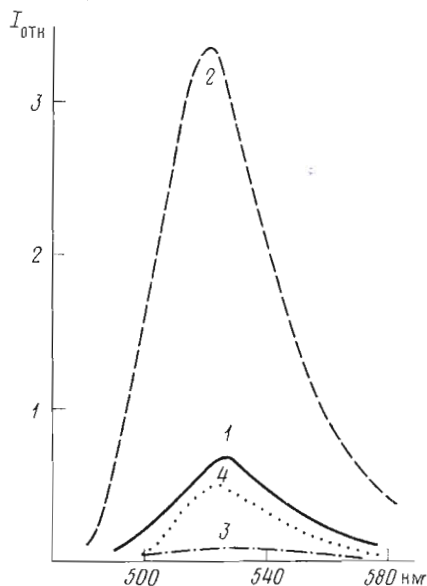


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость флуоресценции от рН (с 0,01 г/л,  $\lambda_{\text{макс}}$  445 нм, данные некорректированы): 1 – 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN(V), 2 – FMN, 3 – 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD(VII), 4 – FAD

Рис. 2. Спектры эмиссии флуоресценции в фосфатном буфере (рН 7): 1 – 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN(V), 2 – FMN, 3 – 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD(VII), 4 – FAD

ценных флавинов [18] (таблица). Флуоресценция мовонуклеотида (V) в интервале рН 2–9 постоянна, так же как и для FMN (рис. 1). Однако по сравнению с FMN наблюдается сильное тушение флуоресценции на ~82% (таблица, рис. 2). Ранее отмечалось, что введение в метильную группу положения 8 рибофлавина такого заместителя, как N-ацетил-L-цистеин, вызывает тушение флуоресценции рибофлавина примерно на 90% [10, 19] (таблица). Кривая потенциометрического титрования флавина (V) 0,05 н. NaOH имеет три точки перегиба, которые отвечают  $pK_{a1}$  4,5,  $pK_{a2}$  6,4 и  $pK_{a3}$  8,9, в отличие от FMN ( $pK_{a1}$  4,6,  $pK_{a2}$  8,6 – образование моно- и динатриевой соли соответственно).  $pK_{a2}$  6,4, по-видимому, можно отнести к аминокислотному остатку в положении 8 $\alpha$ , так как  $pK_a$  N-ацетил-L-цистеина составляет ~6,5.

При испытании 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN (V) на ингибиторную активность по отношению к гликогенфосфорилазе Б (КФ 2.4.1.1) из скелетных мышц кролика было показано, что это соединение примерно в 20 раз более слабый ингибитор, чем FMN [20].

Синтез динуклеотида (VII) мы осуществили из триэтиламониевой соли 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-2',3',4'-три-O-ацетил-FMN (IV) и 4-морфолин-N,N'-дициклогексилкарбоксамидиниевой соли морфолида (VI) в смеси пиридина и диметилформаида (1 : 1). При этом обнаружено, что вследствие протекающего в реакционной смеси гидролиза ацетильных групп в положениях 2',3' и 4' флавина (IV) продуктом конденсации является 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII). Динуклеотид (VII) выделяли из смеси флавинов в виде натриевой соли гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-25 по методу [21]. Полученные образцы хроматографически однородного динуклеотида (VII) не содержат флуоресцирующих примесей флавинов и производных адепозина, но не свободны от неорганических примесей. Содержание 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII) составляет ~70% (определяли спектрофотометрически, принимая величину коэффициента молярного

Спектры поглощения ( $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon \cdot 10^4$ )) и флуоресценции флавинов при pH 7

Соединение	Спектр поглощения				$\epsilon_{\text{III}}/\epsilon_{\text{I}}$	$\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}}$	Спектр флуоресценции		
	$\lambda_{\text{IV}}$	$\lambda_{\text{III}}$	$\lambda_{\text{II}}$	$\lambda_{\text{I}}$			$\lambda_{\text{фл}}$	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм	$I_{\text{отн.}}$ , %
8 $\alpha$ -(Цистеин-S-ил)рибофлавин	223 (3,01)	268 (3,14)	360	445				10* [10]	
Рибофлавин			374 (1,08)	445 (1,23)		0,88			
8 $\alpha$ -(N-Ацетил-L-цистеин-S-ил)рибофлавин	224 (3,80)	269 (3,40)	368 (0,87)	448 (1,20)		0,72		8** [17]	
8 $\alpha$ -(N-Ацетил-L-цистеин-S-ил)FMN (V)	224 (3,36)	268 (3,22)	365 (0,82)	446 (1,23)		0,67		18	
FMN		266 (3,48)	373 (1,04)	446 (1,23)		0,83		100	
8 $\alpha$ -(N-Ацетил-L-цистеин-S-ил)FAD- (VII)		263 (4,25)	363 (0,98)	450 (1,13)		0,86		1,8 (10***)	
FAD		263 (3,80)	375 (0,93)	450 (1,13)		0,82		18	

\* Относительно рибофлавина, \*\* 2',3',4',5'-тетра-О-ацетилрибофлавина, \*\*\* FAD.

поглощения в максимуме поглощения при 450 нм равной соответствующей величине для FAD при этой же длине волны).

Динариевая соль 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD — вещество темно-коричневого цвета. Строение динуклеотида (VII) подтверждено данными электронного спектра поглощения, ИК- и КД-спектров, а также зависимостью флуоресценции от pH. В результате гидролиза динуклеотида (VII) в кислой среде (0,1 н. HCl, 80° C, 3 ч) количественно определена по реакции с орцином [22] D-рибоза: найдено 1,08 моль D-рибозы на 1 моль динуклеотида. Спектр поглощения в УФ- и видимой области 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII) аналогичен спектру FAD (таблица), но имеет гипсохромный сдвиг максимума второй полосы поглощения (от 375 до 363 нм), характерный для 8 $\alpha$ -замещенных флавинов [18]. Увеличение соотношений коэффициентов молярного поглощения  $\epsilon_{\text{III}}/\epsilon_{\text{I}}$  (3,77) (см. таблицу) в спектре поглощения флавина (VII) по сравнению с FAD (3,34), возможно, отражает более слабое, чем у FAD, взаимодействие между флавиновым и адениновым хромофорами в нейтральном водном растворе. Серосодержащий заместитель в положении 8 $\alpha$  изоаллоксазинового цикла динуклеотида (VII) вызывает резкое тушение флуоресценции, характерной для рибофлавина, FMN и FAD, до 10% (таблица, рис. 2). Интенсивность флуоресценции соединения (VII) достигает максимального значения при pH 2,9 и резко падает при повышении pH (рис. 1), что аналогично зависимости изменения интенсивности флуоресценции FAD от pH [23]. Это дает основание предположить, что в нейтральных водных растворах динуклеотид (VII), так же как и FAD, существует в виде внутримолекулярного комплекса. Для динуклеотида (VII) потенциометрическим титрованием 0,05 н. NaOH мы определили следующие значения pK: pK<sub>a1</sub> 4,7, pK<sub>a2</sub> 6,47 и pK<sub>a3</sub> 8,7 (для FAD pK<sub>a</sub> 4,55 и 8,75).

В ИК-спектрах флавинов (V) и (VII) имеются полосы поглощения при 975 и 1000 см<sup>-1</sup>, отсутствующие в ИК-спектрах FMN и FAD, но характерные для N-ацетил-L-цистеина,

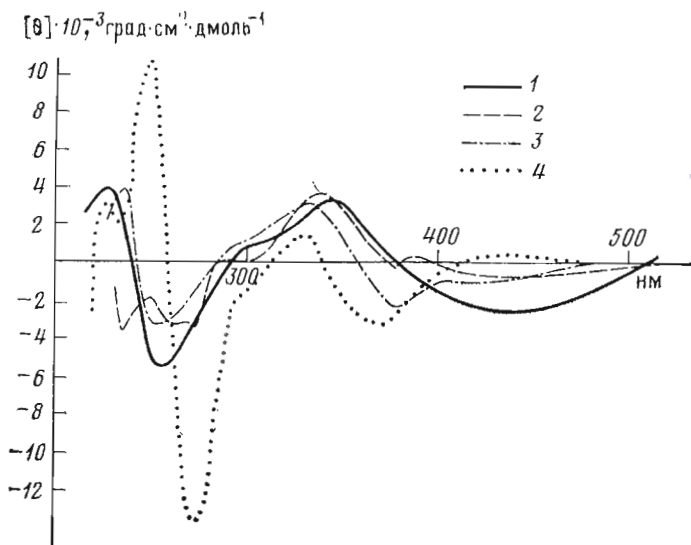


Рис. 3. Спектры КД ( $H_2O$ ): 1 —  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN(V), 2 — FMN, 3 —  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD(VII), 4 — FAD

которые, по-видимому, можно отнести к внеплоскостным деформационным колебаниям гидроксила  $COOH$ -группы аминокислотного остатка [24]. В ИК-спектрах флавина (V) и N-ацетил-L-цистеина наблюдается полоса поглощения при  $1250\text{ см}^{-1}$ , относящаяся к валентным колебаниям C—O-связи в ацетагах [24]. Слабую полосу поглощения при  $\sim 680\text{ см}^{-1}$ , присутствующую в ИК-спектре флавина (V), предположительно можно отнести к валентным колебаниям C—S-связи [24]. Полоса поглощения вблизи  $1370\text{ см}^{-1}$  относится, вероятно, к аминокислотному остатку положения  $8\alpha$ , так как присутствует в ИК-спектрах флавинов (V) и (VII) и N-ацетил-L-цистеина, но ее нет в ИК-спектрах FMN и FAD; известно также, что большинство аминокислот и их производных поглощает вблизи  $1300\text{ см}^{-1}$  [24]. В ИК-спектре  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII) наблюдается также полоса поглощения при  $944\text{ см}^{-1}$ , отвечающая асимметричным валентным колебаниям P—O—P-связи динуклеотида [24].

Спектр КД  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN (V) в воде (рис. 3) содержит полосы с отрицательным эффектом Коттона при  $254\text{ нм}$  ( $\theta -5700$ ) и  $445\text{ нм}$  ( $\theta -3000$ ), полосу с положительным эффектом Коттона при  $345\text{ нм}$  ( $\theta +3300$ ), отвечающие электронным переходам в изоаллоксазиновом хромофоре при  $268$ ,  $365$  и  $446\text{ нм}$ , а также низкоинтенсивные полосы при  $290$ – $310\text{ нм}$ . Спектр КД флавина (V) идентичен спектру КД  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-2',3',4',5'-тетра-O-ацетилрибофлавина [17].

Спектр КД  $8\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII) состоит из положительных полос при  $233\text{ нм}$  ( $\theta +3800$ ) и  $333\text{ нм}$  ( $\theta +3000$ ) и отрицательных полос при  $255\text{ нм}$  ( $\theta -3200$ ) и  $385\text{ нм}$  ( $\theta -2200$ ) с плечом при  $295\text{ нм}$ . В отличие от спектра КД FAD в спектре производного (VII) имеется также экстремум при  $395\text{ нм}$  ( $\theta -1100$ ) и широкая отрицательная полоса в области  $420$ – $440\text{ нм}$ , которые, по-видимому, отражают взаимодействие аминокислотного остатка положения  $8\alpha$  с остальной частью молекулы флавина (VII). Наличие экстремумов при  $233$ ,  $255$  и  $385\text{ нм}$  и подобие спектров КД флавина (VII) и FAD в области  $200$ – $400\text{ нм}$  дает основание полагать, что в нейтральных водных растворах динуклеотид (VII) может находиться в стеккинг-конформации и иметь структуру внутримолекулярного комплекса, аналогичного FAD [25]. В спектрах КД флавинов (V) и (VII) наблюдается коротковолновый сдвиг в ближней УФ-области по сравнению с FMN и FAD на  $\sim 20\text{ нм}$ , связанный, вероятно, с наличием заместителя в положении  $8\alpha$ . Уменьшение молярной эллиптичности экстремумов при  $233$ ,  $255$  и  $385\text{ нм}$  в спектре КД флавина (VII) указывает, возможно, на ослабление взаимодействия между изоаллоксазиновой и адениновой частями флавина (VII) по сравнению с FAD.



## Экспериментальная часть

УФ- и видимые спектры поглощения сняты на спектрофотометре Hitachi EPS-3T (Япония) в фосфатном буфере, pH 7, ИК-спектры (таблетки KBr) — на спектрофотометре Perkin — Elmer 180 (США), спектры флуоресценции — на приборе Hitachi MPF-2A ( $\lambda_{\text{возб}}$  445 нм); использовали следующие буферные растворы: глицин — 0,2 М HCl (pH 1,4—3,6), 0,2 М  $\text{CH}_3\text{COONa}$  — 0,2 М  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (pH 4—5,6), 0,1 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  — 0,1 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH 6—8), 1 М  $\text{NaHCO}_3$  — 1 М  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (pH 8—10). Спектры КД сняты на дихрографе Jobin-Yvon Dichrographe III (Франция) в кюветках с длиной оптического пути 1 см (чувствительность  $1 \cdot 10^{-6}$ ). Хроматографию проводили в восходящем потоке на бумаге FN 11 (ГДР) в системах растворителей: пиридин — изобутанол — вода — AcOH, 33:33:33:1 (А), ацетонитрил — вода, 7:3 (Б) и на силуфоле UV<sub>254</sub> в системах: пиридин — 2 н. AcOH, 4:1 (В), этанол — вода, 4:1 (Г). Потенциометрическое титрование проводили на приборе pH-340. 2,3,4-Триацетил-FMN (II) получали по методу [26], 8 $\alpha$ -бром-2',3',4'-триацетил-FMN (III) — по методам [15, 16], 4-морфолин-N,N'-дициклогексилкарбоксамидиниевую соль морфолида AMP (VI) — по методу [27].

8 $\alpha$ -(N-Ацетил-L-цистеин-S-ил)-2',3',4'-три-О-ацетил-FMN (триэтиламмониевая соль) (IV) и 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN (V). Раствор 2 г 8 $\alpha$ -бром-2',3',4'-три-О-ацетил-FMN (III) и 0,44 г N-ацетил-L-цистеина в 100 мл абс. диметилформамида продували 1 ч очищенным от кислорода азотом, по каплям за 5 мин приливали 1 мл триэтиламина и выдерживали 1 ч при  $\sim 20^\circ\text{C}$ , пропуская азот. За ходом реакции следили с помощью ТСХ (флавины (III) и (IV) имеют  $R_f \sim 0,50$  и 0,52 (А),  $\sim 0,90$  (В) соответственно). Реакционную смесь по каплям выливали в 500 мл сухого эфира. Выпавший темно-коричневый маслянистый осадок отфильтровывали, растирали с эфиром и получали 1,7 г смеси флавинов, содержащей 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-2',3',4'-три-О-ацетил-FMN (IV). В смеси флавинов обнаружена и триэтиламмониевая соль промежуточного продукта синтеза — 2',3',4'-три-О-ацетил-FMN (II) ( $R_f$  0,76 (А)). 0,6 г этой смеси разделяли на колонке (45×1500 мм) с сефадексом G-10 fine, элюируя вещества водой со скоростью от 1 до 3 мл/мин. Фракции с  $\lambda_{\text{макс}}$  365 нм и  $R_f$  0,30 (А) и 0 (Г) объединяли, фильтровали через фильтр Шотта № 4, обрабатывали *n*-бутанолом для удаления непрореагировавшего N-ацетил-L-цистеина и упаривали в вакууме при 25—30° С до суха. Сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Получали 0,23 г (49%) хроматографически однородного соединения (V) (содержание 60—75%). Электронный спектр поглощения флавина (V) — см. таблицу; ИК-спектр,  $\nu_{\text{макс}}$ , см<sup>-1</sup>: 1715, 1665 (C(4)=O, C(2)=O), 1580, 1550 (C=C, C=N), 1370 (COOH), 1250 (C—O), 975 (OH из COOH-группы), 680 сл. (C—S);  $\rho K_{a1}$  4,5,  $\rho K_{a2}$  6,4,  $\rho K_{a3}$  8,9.

8 $\alpha$ -(N-Ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII). 0,6 г смеси флавинов, полученной в результате реакции 8 $\alpha$ -бром-2',3',4'-три-О-ацетил-FMN (III) с N-ацетил-L-цистеином и содержащей триэтиламмониевую соль 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-2',3',4'-три-О-ацетил-FMN (IV) (без разделения на сефадексе), и 0,6 г 4-морфолин-N,N'-дициклокарбоксамидиниевой соли морфолида AMP (VI) тщательно измельчали, растворяли в смеси пиридина и диметилформамида (1:1) и выдерживали в токе азота 20 ч при 50° С, охлаждали, добавляли раствор 0,16 г NaClO<sub>4</sub> в 50 мл метилового спирта. Выпавший осадок оставляли на 2—4 ч при 2—5° С, отфильтровывали, промывали метиловым спиртом (3×30 мл), эфиром, сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> и получали 0,4 г осадка зеленовато-коричневого цвета, в котором при хроматографировании в системе Б обнаружены флуоресцирующие пятна с  $R_f$  0,06; 0,50 и 0,65, соответствующие 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII), 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FMN (V) и 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)рибофлавин-4',5'-циклофосфату, а также пятно красного цвета на старте, предположительно отвечающее продукту димеризации флавинов ( $\lambda_{\text{макс}}$  263 и 475 нм). Спектрофотометрическим методом после элюции определено соотношение компонентов 11:23:11:5. На хро-

матограмме имелись также пиксы с  $R_f$  0,32; 0,42 и 0,58, которые, как установлено при хроматографировании со свидетелями, соответствуют FAD, FMN и рибофлавин-4',5'-циклофосфату. Смесь флавинов разделяли на колонке (50×1200 мм) с сефадексом G-25 (подвижная фаза — вода, скорость потока 1—3 мл/мин). Фракции, которые при хроматографировании в системе Г имели  $R_f$  0 и  $\lambda_{\text{макс}}$  363 нм в спектре поглощения, упаривали в вакууме при 30° С, затем упаривали с абс. спиртом (2×40 мл), промывали эфиром, сушили. Получали хроматографически однородный 8 $\alpha$ -(N-ацетил-L-цистеин-S-ил)-FAD (VII) с выходом ~11%. Электронный спектр поглощения флавина (VII) — см. таблицу; ИК-спектры,  $\nu_{\text{макс}}$ , см<sup>-1</sup>: 1720, 1620 (C(4)=O, C(2)=O), 1580, 1545 (C=C, C=N), 1370 (COOH), 1000 (ОН из COOH-группы), 944 (P—O—P);  $pK_{a1}$  4,7,  $pK_{a2}$  6,5,  $pK_{a3}$  8,7.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Поволоцкая К. Л. Биохимия, 1953, т. 18, № 4, с. 638—643.
2. Поволоцкая К. Л., Бурин В. Н. Укр. биохим. ж., 1955, т. 27, № 3, с. 364—367.
3. Boukine V. N. Resumés de Communication, 3 me Congr. Internat. de Biochemie, Bruxelles, 61. Proceeding of the 3rd Intern. Congr. of Biochemistry, Brussel, 1955. N. Y., 1956, p. 260.
4. Kearney E. B. J. Biol. Chem., 1960, v. 235, № 3, p. 865—877.
5. Walker W. H., Singer T. P. J. Biol. Chem., 1970, v. 245, № 16, p. 4224—4225.
6. Ghisla S., Hartman U., Hemmerich P. Angew. Chem., 1970, v. 82, № 16 p. 669—670.
7. Kearney E. B., Salach J., Walker W. H., Seng R., Singer T. P. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1974, v. 42, № 3, p. 490—496.
8. Walker W. H., Kearney E. B., Seng R., Singer T. P. Eur. J. Biochem., 1971, v. 24, № 2, p. 328—331.
9. Kearney E. B., Salach J., Walker W. H., Seng R., Kenney W. C., Zeszotek E., Singer T. P. Eur. J. Biochem., 1971, v. 24, № 2, p. 321—327.
10. Ghisla S., Hemmerich P. FEBS Lett., 1971, v. 16, № 4, p. 229—232.
11. Kenney W. C., Singer T. P. J. Biol. Chem., 1977, v. 252, № 14, p. 4767—4772.
12. Kenney W. C., Edmondson D. E., Singer T. P. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1973, v. 52, № 2, p. 434—439.
13. Yamanaka T. In: Flavins and flavoproteins / Ed. Singer T. P. N. Y.: Acad. Press, 1976, p. 292—301.
14. Kenney W. C., McIntire W., Yamanaka T. Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 483, № 2, p. 467—474.
15. Жилина Т. А., Березовский В. М. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 4, с. 516—520.
16. Zhilina T. A., Berezovskii V. M. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 1977, v. 23, № 4, p. 265—271.
17. Falk M. C., Johnson P. G., McCormick D. B. Biochemistry, 1976, v. 15, № 3, p. 639—645.
18. Singer T. P., Edmondson D. E. FEBS Lett., 1974, v. 42, № 1, p. 1—14.
19. Falk M. C., McCormick D. B. Biochemistry, 1976, v. 15, № 3, p. 646—653.
20. Кайнов С. В., Чебогарева Н. А., Курганов В. И., Ливзак Ж. И., Жилина Т. А., Глебова Г. Д., Пекель И. Д., Березовский В. М. Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 9, с. 1161—1170.
21. Хомутова Е. Д., Шаниро Т. А., Мезенцева М. В., Березовский В. М. Хим. фармацевт. ж., 1967, т. 1, № 1, с. 11—15.
22. Kerr S. E. J. Biol. Chem., 1945, v. 159, № 1, p. 211—213.
23. Weber G. Biochem. J., 1950, v. 47, № 1, p. 114—119.
24. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. М.: Изд-во иностр. лит., 1963, с. 247, 248, 335, 461, 502, 504.
25. Miles D. W., Urry D. W. Biochemistry, 1968, v. 7, № 10, p. 2791—2794.
26. Christie S. M. N., Kenner G. W., Todd A. R. J. Chem. Soc., 1954, v. 46, p. 46—52.
27. Moffat J., Khorana H. J. Amer. Chem. Soc., 1961, v. 83, № 3, p. 649—653.

Поступила в редакцию  
12.III.1984

#### NUCLEOTIDES, COENZYMES, PHOSPHORIC ESTERS. XXXVI. SYNTHESIS OF COENZYMES OF MONOAMINE OXIDASE

ZHILINA T. A., BEREZOVSKII V. M.

All-Union Vitamin Research Institute, Moscow

8 $\alpha$ -bromo-2',3',4'-triacetyl-FMN reaction with N-acetyl-L-cysteine afforded 8 $\alpha$ -(N-acetyl-L-cystein-S-yl)-FMN. Condensation of 8 $\alpha$ -(N-acetyl-L-cysteine-S-yl)-2',3',4'-triacetyl-FMN triethylammonium salt and 4-morpholine-N,N'-dicyclohexylcarboxamidinium adenosine 5'-phosphomorpholidate gave 8 $\alpha$ -(N-acetyl-L-cystein-S-yl)-FAD, acetylcoenzyme of monoamine oxidase. The structure of the obtained products was confirmed by IR, CD, fluorescence, and absorption spectra in the UV and visible regions.