



УДК 547.963.057:577.113.6

РЕАГЕНТЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ МОДИФИКАЦИИ БИОПОЛИМЕРОВ.

VII*. ЗАМЕЩЕННЫЕ ПЕРФТОРАРОМАТИЧЕСКИЕ АЗИДЫ. ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ НА ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОМОДИФИКАЦИИ ИМИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

© 1996 г. М. И. Добриков[#], Р. Ю. Дудко, А. С. Левина, Л. М. Халимская*, Г. В. ШишкинНовосибирский институт биоорганической химии СО РАН,
630090, Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 8;

* Новосибирский государственный университет

Поступила в редакцию 20.03.95 г. После доработки 10.10.95 г.

Пиридин-илидным методом изучены и сопоставлены фотохимические свойства девяти перфторароматических и двух ароматических азидов. Оценена относительная реакционная способность образующихся при фотолизе частиц. Показано, что увеличение цепи сопряжения перфторароматических азидов вызывает bathochromный и гиперхромный сдвиги в спектре поглощения, увеличивает фотоактивность и скорость интеркомбинационной конверсии генерируемых нитренов. Исследована триплетная сенсбилизация фотолиза азидов протонным растворителем – метанолом. Осуществлен синтез олигонуклеотидного производного *n*-азидотетрафторбензальдоксима и проведена комплементарно-адресованная фотомодификация им ДНК-мишени. Предложены модели фотомодификации нуклеиновых кислот в составе комплементарного комплекса и в растворе, пригодные для тестирования ароматических азидов. Согласно этим моделям, направленная фотомодификация ДНК-мишени, вероятно, происходит только в плотном комплексе, когда расстояние между основанием-мишенью и азидом почти равно сумме их ван-дер-ваальсовых радиусов.

Ключевые слова: перфторароматические азиды, олигонуклеотиды, комплементарно-адресованная фотомодификация.

Ранее было показано, что перфторированные ароматические азиды являются эффективными и перспективными реагентами для комплементарно-адресованной фотомодификации нуклеиновых кислот (НК) [2–6], причем высказывалось предположение, что в реакциях модификации НК ведущую роль играют электрофильные синглетные нитрены, генерируемые при облучении ароматических азидов. Это предположение было основано на работах [7, 8], в которых показано, что для протекания таких фотореакций необходимо наличие атомов фтора в *орто*- и *орто'*-положениях к азидогруппе и желателно их присутствие в *мета*- и *мета'*-положениях.

Сокращения: НК – нуклеиновая кислота, S – синглетный нитрен; Т – триплетный нитрен; Ket – кетенимин (1-азациклогептатетраен); Руг – пиридин; YS – илид синглетного нитрена; YKet – илид кетенимина; ISC – интеркомбинационная конверсия синглетного нитрена в триплетный; EXP – реакция расширения бензольного цикла до кетенимина. В работе использованы олигонуклеотиды только дезоксирибозы, поэтому префикс дезоксирибо- в названиях опущен.

* Сообщение VI см. [1].

[#] Автор для переписки.

Цель настоящей работы – исследовать влияние *para*-заместителей в перфторфенилазидах на реакционную способность фотогенерируемых из них нитренов и подобрать простую модель, с хорошим приближением воспроизводящую условия протекания фотохимических реакций в комплементарных комплексах НК, для тестирования фотореагентов на основе ароматических азидов.

Основным методом изучения реакционной способности частиц, образующихся при фотодиссоциации ароматических азидов, является низкотемпературный флеш-фотолиз в замороженных матрицах [9]. Однако получаемые данные мало пригодны для объяснения и предсказания результатов по комплементарно-адресованной фотомодификации НК, поскольку реакционная способность интермедиатов сильно зависит от температуры [10].

В работах [8, 11–13] предложен удобный способ определения типа и мультиплетности реакционноспособных частиц, образующихся при фотолизе фторированных ароматических азидов. Он основан на комбинированном использовании

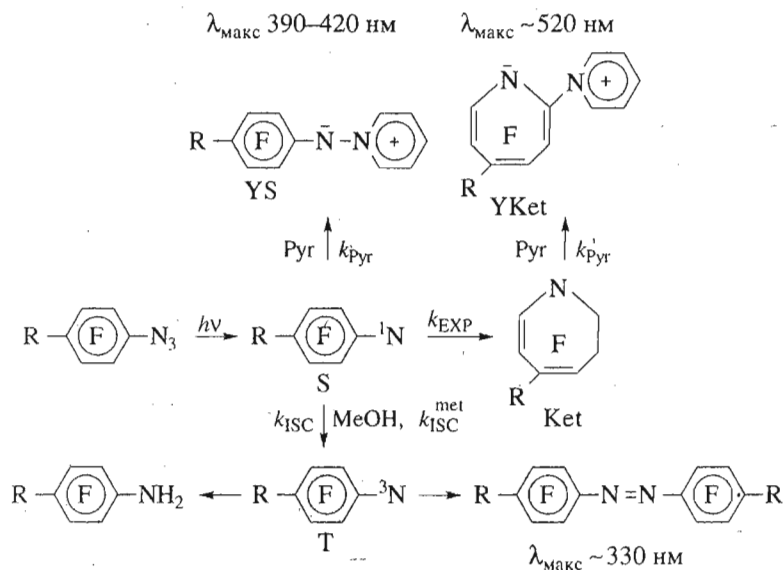


Схема.

химических ловушек интермедиатов (пиридин) и сенсбилизаторов (метанол) и формально является разновидностью динамического штерн-фольмеровского метода тушения возбужденных состояний [14]. Было установлено, что в этих условиях протекают реакции [8, 13], представленные на схеме.

Для инициирования процесса проводят импульсный (10 нс) лазерный фотолиз при λ 308 нм в бескислородных условиях. Синглетный нитрен S, первоначально образующийся при фотодиссоциации арлазида, либо реагирует с пиридином, давая стабильный илид YS, либо в ходе реакции расширения цикла (EXP) перегруппировывается в кетенимин Ket, либо претерпевает интеркомбинационную конверсию (ISC) в триплетный нитрен T. Добавление метанола или других триплетных сенсбилизаторов ускоряет ISC. В свою очередь кетенимин реагирует с пиридином, образуя нестабильный илид YKet.

Илиды имеют характерное поглощение в видимой области (для продуктов превращения пентафторфенилазида $\lambda_{\text{макс}}(\text{YS}) = 390$ и $\lambda_{\text{макс}}(\text{YKet}) = 520$ нм), а основные продукты, образующиеся из триплетного нитрена T, — амины и азосоединения — поглощают при 330 нм [12]. Это позволяет одновременно регистрировать продукты превращения всех трех реакционноспособных частиц (S, T и Ket).

При фотолизе в растворах пиридина константа скорости расходования нитрена S равна:

$$k = k_{\text{Pyg}}[\text{Pyg}] + k_{\text{ISC}} + k_{\text{EXP}}, \quad (1)$$

где k_{ISC} и k_{EXP} — константы скоростей внутримолекулярных реакций ISC и EXP; k_{Pyg} — константа ско-

рости бимолекулярной реакции нитрена S с пиридином.

В работе [8] показано, что при фотолизе перфторированных азидов в 100% пиридине количественно идет образование илида YS, и делается допущение, что при понижении концентрации пиридина до значений $[\text{Pyg}]_{1/2}$, при которых накопление илида YS достигает только половины максимальной возможной концентрации, скорость образования илида YS равна сумме скоростей образования нитрена T и кетенимина, т.е. генерируемый синглетный нитрен S полностью расходуется по трем указанным выше направлениям. При этом должно выполняться уравнение

$$k_{\text{Pyg}}[\text{Pyg}]_{1/2} = k_{\text{EXP}} + k_{\text{ISC}}. \quad (2)$$

Но поскольку k_{EXP} для перфторированных азидов мала по величине и слабо зависит от заместителей в *para*-положении [8], то ее вкладом можно пренебречь. Тогда уравнение (2) упрощается:

$$k_{\text{Pyg}}[\text{Pyg}]_{1/2} = k_{\text{ISC}}. \quad (3)$$

Недостатками метода, препятствующими его широкому использованию, являются необходимость проведения экспериментов в бескислородных условиях и особенно применение монохроматического излучения наносекундного ультрафиолетового химического лазера с многоканальным анализатором. Мы попытались упростить метод, используя кислородные условия и постоянное облучение фильтрованным светом (303–313 нм) ртутной лампы высокого давления. Такое упрощение не позволяет определять абсолютные значения констант, но дает возможность оценить их соотношения согласно уравнениям (2) и (3).

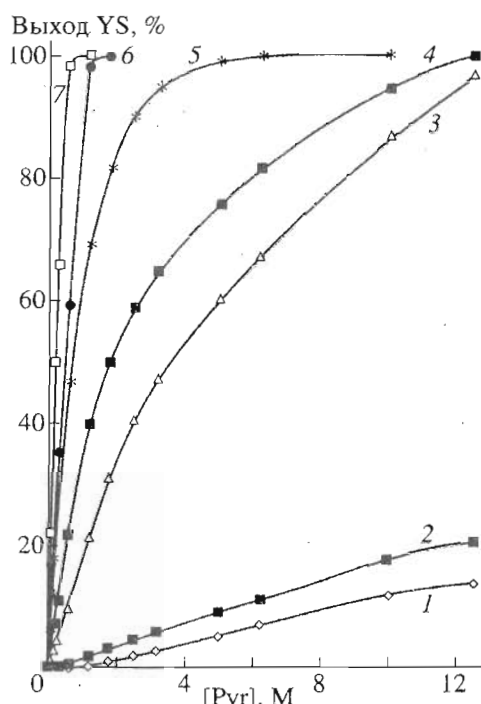
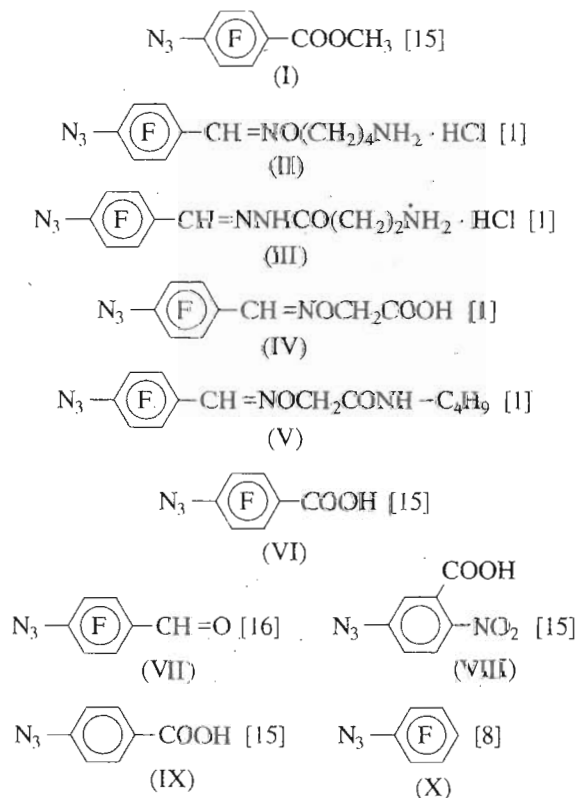


Рис. 1. Зависимость выхода илидов YS синглетного нитрена от концентрации пиридина при фотолизе перфторароматических и ароматических азидов в гептане (λ 303–313 нм; τ 20 мин для азидов (II–V, VII, VIII) и 3 ч для азидов (I, VI, IX)): 1 – (IX), 2 – (VIII), 3 – (III), 4 – (II), (IV), (V), 5 – (VII), 6 – (VI), 7 – (I).

В настоящей работе исследовались следующие азиды, описанные в указанных статьях:



На рис. 1 представлены данные экспериментов по фотолизу ароматических и перфторароматических азидов в гептановых растворах с различной концентрацией пиридина. Кривая 7 для азиды (I) практически совпадает с аналогичной кривой из работы [12], полученной методом лазерного флэш-фотолиза. Следовательно, предлагаемое упрощение метода не должно приводить к большим ошибкам при определении кинетических параметров. Сделав допущение, вытекающее из неплоского строения пиридиновых илидов YS, что для всех генерированных илидов YS молярные коэффициенты поглощения при $\lambda_{\text{макс}}$ в области 390–420 нм близки, можно сопоставить кинетические кривые фотолиза для всех исследованных азидов.

Видно, что выход илидов YS для всех перфторированных азидов намного выше, чем для нефторированных, и при фотолизе в чистом пиридине его величина практически выходит на плато, соответствующее, по данным работ [12, 13], ~100%. В отдельном эксперименте с помощью ТСХ было показано, что при фотолизе перфторированных азидов (I)–(VII) действительно образуется единственный продукт, обладающий характерным поглощением илида YS.

Из полученных кривых (рис. 1) по уравнению (3) оценены соотношения констант $k_{\text{Pyr}}/k_{\text{ISC}}$.

Из табл. 1 следует, что величина соотношения констант сильно зависит от заместителя, находящегося в *para*-положении к азидогруппе. Наибольшее соотношение $k_{\text{Pyr}}/k_{\text{ISC}}$ для перфторарилазидов (I), (X), затем для азиды (VI), содержащего менее электроноакцепторный заместитель ($-\text{COO}^-$), и еще меньше для азиды (VII), содержащего заместитель ($-\text{CH}=\text{O}$), способствующий реакции ISC (но при этом образование илида YS все же остается основным процессом).

Для соединений (II)–(V) с более длинной цепью сопряжения соотношение $k_{\text{Pyr}}/k_{\text{ISC}}$ снижается еще больше, причем видно, что уменьшение этого соотношения в перфторированных азидках коррелирует с bathochromным сдвигом спектра их поглощения. Видимо, увеличение k_{ISC} обусловлено длинноволновым сдвигом полосы поглощения перфторарилазидов. Это согласуется с литературными данными [7] об ускорении ISC при введении хромофорных групп типа ($-\text{NO}_2$) в *para*-положение к азидогруппе в перфторароматических соединениях. Тем не менее соотношение $k_{\text{Pyr}}/k_{\text{ISC}}$ для всех перфторированных ароматических азидов намного больше, чем для нефторированных соединений (VIII) и (IX), что позволяет надеяться на то, что все перфторированные ароматические азиды, описанные в настоящей работе, окажутся эффективными реагентами для комплементарно-адресованной фотомодификации нуклеиновых кислот.

Метанол, как и другие протонные растворители, способен к образованию с нитренами S и T

водородных связей, которые стабилизируют интермедиаты и ускоряют реакцию ISC [13]. При этом обычно наблюдается значительное уменьшение выхода илида YS и увеличение выхода продуктов реакции триплетного нитрена. Такое влияние протонного растворителя на выход илида YS может служить моделью неспецифической модификации биополимеров вне аффинного комплекса, т.е. из раствора.

Для оценки склонности разных азидов к сенсibilизации метанолом нами исследована зависимость выхода илида YS от концентрации метанола при постоянной концентрации пиридина в гептане. Когда $[Pyr] \gg [Pyr]_{1/2}$, вкладом внутримолекулярных превращений ISC и EXP можно пренебречь ($k_{ISC} + k_{EXP} \ll k_{Pyr} \cdot [Pyr]$). Тогда справедливо отношение Штерна-Фольмера [12]:

$$\left(\frac{[YS]}{[YS]^{met}} - 1 \right) \cdot [Pyr] = \frac{k_{ISC}^{met}}{k_{Pyr}} \cdot [CH_3OH], \quad (4)$$

где $[YS]$ и $[YS]^{met}$ – концентрации образующегося илида в отсутствие и в присутствии метанола соответственно; k_{ISC}^{met} – константа скорости ISC в присутствии метанола.

Для азидов (I)–(IX) строили графики в координатах $\left(\frac{[YS]}{[YS]^{met}} - 1 \right) \cdot [Pyr]$; $[CH_3OH]$. На рис. 2 представлены полученные данные. При $[CH_3OH] \ll 5$ М во всех случаях наблюдалась линейная зависимость. Исходя из этого и для того, чтобы выполнялось неравенство $(k_{ISC} + k_{EXP}) \ll k_{Pyr} \cdot [Pyr]$, оптимальное значение концентрации пиридина должно быть 10 М. По углу наклона прямых определяли (k_{Pyr}/k_{ISC}^{met}) . Полученные значения также приведены в табл. 1.

Наибольшее соотношение наблюдается для гидрофобного азида (I) и положительно заряжен-

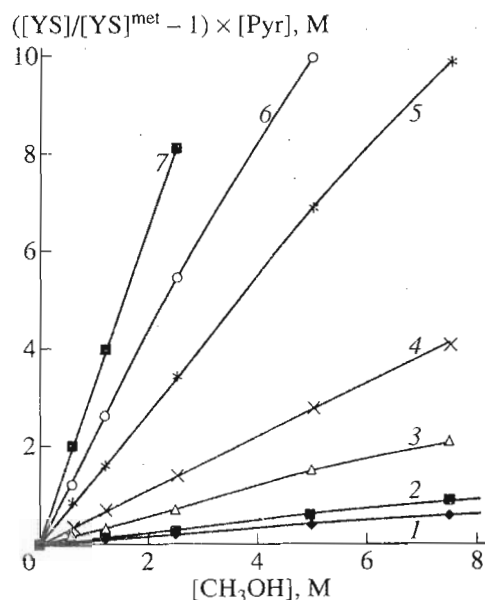


Рис. 2. Штерн-фольмеровское гашение нитрена S метанолом. Зависимость величины $([YS]/[YS]^{met} - 1) \cdot [Pyr]$ при фотолизе ароматических и перфторароматических азидов в пиридине от концентрации метанола: 1 – (I), (III), 2 – (II), 3 – (V), 4 – (IV), 5 – (VIII), 6 – (VI), 7 – (VII).

ных азидов (II) и (III). Наиболее склонными к сенсibilизации метанолом оказались отрицательно заряженные соединения (IV), (VI) и (VIII), а также азид (VII), способный к химическому взаимодействию с метанолом. В целом соотношения констант различаются на 1.5 порядка для разных азидов; следовательно, на эффективность данного процесса можно влиять с помощью заместителей.

Для проверки того, насколько пиридин-илидный метод пригоден при оценке эффективности комплементарно-адресованной модификации, была проведена фотомодификация гексадекануклеотида-мишени (XI) светочувствительным октануклеотидным производным (XII). Производное

Таблица 1. Соотношения констант k_{Pyr}/k_{ISC} , k_{Pyr}/k_{ISC}^{met} , k_{Pyr}/k_{EXP} и длина волны поглощения λ_{max} для ароматических азидов*

Соединение	λ_{max} , нм	Соотношение констант			Соединение	λ_{max} , нм	Соотношение констант		
		k_{Pyr}/k_{ISC} , М ⁻¹	k_{Pyr}/k_{ISC}^{met}	k_{Pyr}/k_{EXP} , М ⁻¹			k_{Pyr}/k_{ISC} , М ⁻¹	k_{Pyr}/k_{ISC}^{met}	k_{Pyr}/k_{EXP} , М ⁻¹
(IV)	287	0.5	2.0	–	(I)	255	15.1	10.2	–
(V)	289	0.5	3.5	–	(IX)	271	–	2.4 [#]	5.0 [#]
(II)	289	0.5	10.5	–	(VIII)	306	0.03	0.75	–
(III)	306	0.25	11.0	–	(X)	251	10.0 [#]	4.6 [#]	16.0 [#]
(VII)	280	2.0	0.3	–					
(VI)	258	3.0	0.4	–					

* (–) – соотношение констант не определяли. k_{Pyr}/k_{EXP} оценили только для азиды (IX), для которого образование кетенимина (EXP) является основным процессом. Видно, что полученное значение согласуется с литературными данными.

[#] и ^{##} – литературные данные [8] и [12].

Таблица 2. Кинетические характеристики фотоллиза азидов и эффективность комплементарно-адресованной фотомодификации ДНК-матрицы

Характеристики	(VI)	(IV)	(III)	(VIII)	(IX)
$k_{\text{Pyr}}/(k_{\text{ISC}} + k_{\text{EXP}}), \text{M}^{-1}$	3	0.5	0.25	0.03	0.015
Степень модификации ДНК-мишени олигонуклеотидными производными этих азидов (выход ковалентных аддуктов, %)	69*	57	33**	15***	<5***
Относительная эффективность фотомодификации ДНК-мишени, %	100	82	48	21	7
Выход илида YS в 6 М пиридине, %	100	82	65	11	8

* Данные работы [3].

** Данные работы [18].

*** Данные работы [4].

ДНК-матрицы олигонуклеотидными производными реагентов (IV), (VI), (VIII), (IX) и соотношения констант $k_{\text{Pyr}}/(k_{\text{ISC}} + k_{\text{EXP}})$ позволяет сделать вывод, что фотоллиз в гептане в присутствии пиридина достаточно хорошо моделирует процессы фотомодификации НК внутри комплементарного комплекса. Вероятно, основное направление такой модификации действительно связано с электрофильной атакой синглетных нитренов по атомам азота оснований НК пиридинового типа.

Если принять эффективность фотомодификации ДНК-мишени олигонуклеотидным производным фотореагента (VI) за 100%, то наилучшее соответствие результатов по модификации ДНК и по выходу илида YS наблюдается при фотоллизе в 6 М пиридине (см. рис. 1). При такой концентрации пиридина среднестатистическое расстояние между молекулами азидов и пиридина составляет около 6 Å, что практически равно сумме их ван-дер-ваальсовых радиусов [14]. Это позволяет предположить, что фотомодификация ДНК-мишени в комплементарных комплексах протекает только тогда, когда и там расстояние между азидом и основанием-мишенью ненамного превышает сумму ван-дер-ваальсовых радиусов.

При значении $[\text{Pyr}] = 6 \text{ M}$ соотношение

$$\frac{k_{\text{Pyr}} \cdot [\text{Pyr}]}{k_{\text{ISC}} + k_{\text{EXP}}}$$

для всех исследованных перфторароматических азидов больше 1; следовательно, все они являются достаточно перспективными фотореагентами для комплементарно-адресованной фотомодификации нуклеиновых кислот.

Таким образом, в данной работе было изучено влияние пара-заместителей на фотореакционную способность перфторарилазидов и предложены модели фотомодификации НК внутри комплементарного комплекса и неспецифической модификации из раствора, пригодные для тестирования фотореагентов. Предложенные модели от-

крывают новые возможности при направленном конструировании реагентов для высокоэффективной комплементарно-адресованной фотомодификации НК.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали олигонуклеотиды pd(AGAAAGTGAGTGTATC) (XI) и d(CTTTCACU*) (XII), синтезированные *H*-фосфонатным методом на синтезаторе "Виктория-6М" по карте-схеме операций, описанной в [18, 19], в НИБХ СО РАН; акриламид и *N,N'*-метиленбисакриламид (Serva, Германия).

Выделение и очистку производных олигонуклеотидов проводили обращенно-фазовой хроматографией на хроматографе Waters 600-E (колонка 4.6 × 250 мм) со смолой Lichrosorb RP-18 в градиенте концентраций ацетонитрила от 0 до 50% в 0.05 М LiClO₄, скорость элюции 2 мл/мин).

Фотохимические свойства реагентов, фотомодификацию ДНК и сенсбилизированный фотоллиз осуществляли облучением неконденсированным светом ртутной лампы высокого давления ДРК-120 осветителя ОИ-18А (ЛОМО, Санкт-Петербург), фильтрованным следующими наборами стеклянных светофильтров (λ , нм; W , Вт см⁻²): ЖС-3, УФС-2 (303–313, 1×10^{-4}); БС-12, УФС-1 (303–365, 5×10^{-4}) и ЖС-10 (>400, 1×10^{-3}). Мощность излучения лампы в УФ-диапазоне определяли с помощью ферриоксалатного актинометра, а в видимой части спектра – с помощью люксметра Ю-16 (ЛОМО, Санкт-Петербург).

Фотоллиз арилазидов в растворах пиридина

Изучение фотохимических свойств реагентов проводили как описано в [12]. Концентрации всех перфторарилазидов при облучении в растворах пиридина составляли 2×10^{-4} М. Образцы облучали через светофильтры ЖС-3, УФС-2 до исчезновения исходного азидов по данным ТСХ в системе этанол-хлороформ, 1 : 10. В качестве инертного

растворителя использовали гептан. Концентрации пиридина (М) при фотолизе азидов:

- (I), (VI) – 0.07, 0.2, 0.3, 0.6, 1.2, 2.5, 12.5;
 (II), (IV), (V) – 0.3, 0.6, 1.2, 1.8, 3.2, 5.0, 6.2, 10.0, 12.5;
 (III) – 0.6, 1.2, 2.5, 5.0, 6.2, 10.0, 12.5;
 (VII) – 0.6, 1.8, 5.0, 6.2, 10.0, 12.5;
 (VIII), (IX) – 0.8, 3.1, 6.2, 10.0, 12.5.

Фотолиз в растворах пиридина с добавлением метанола. Концентрация пиридина в гептане при облучении азидов (I–III) – 0.6 М, (IV, V, VIII) – 6.2 М и при облучении (VI, VII) – 10.0 М. Концентрации метанола (М) составляли:

- (I, II, III) – 0, 0.3, 0.6, 1.2, 2.5, 5.0, 10.0, 24.0;
 (IV, V, VIII) – 0, 0.3, 1.2, 2.5, 5.0, 7.5;
 (VI) – 0, 0.3, 1.2, 2.5, 5.0;
 (VII) – 0, 0.3, 0.8, 1.8, 2.5.

Октануклеотидное производное п-азидотетрафторбензальдоксима (XII)

Фотоактивное производное олигонуклеотида (XII) получали как описано ранее в работе [3], однако время реакции увеличили в 3 раза.

К раствору 0.1 мкмоль (XII) в 15 мкл смеси вода–DMF (1 : 2) прибавляли раствор 6 мкмоль O-[(сукцинимидо-N-окси)карбонилметил]-п-азидотетрафторбензальдоксима, синтезированного как описано в [1], в 20 мкл DMF порциями по 10, 5 и 5 мкл с интервалом в 1.5 ч. Через 4.5 ч от начала реакции смесь обрабатывали 1.1 мл 2% раствора LiClO₄ в ацетоне. Осадок промывали ацетоном и производное (XII) выделяли с помощью ОФХ, время удержания 16 мин. Выход продукта (XII) 25%. УФ-спектры в воде, $\lambda_{\text{макс}}$ (нм): 266 (XIII); 269 (XII).

Коэффициент молярного поглощения ($\epsilon_{260} = 8 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$) для производного (XII) считали равным сумме значений ϵ_{260} для олигонуклеотида (XIII) – $6.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и модельного соединения (V) – $1.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Значение ϵ_{260} для соединения (XIII) рассчитывали по методу [20]. В УФ-спектре производного (XII) наблюдается плечо в области 290 нм, соответствующее поглощению фотореагента (IV). Отношение $\epsilon_{260}/\epsilon_{290} = 10.7$ для исходного олигонуклеотида (XIII) и 3.0 для продукта (XII), что практически соответствует стехиометрическому соотношению олигонуклеотид-фотореагент 1 : 1.

Фотомодификация октадекануклеотида pd(AGAAAGTGAGTGTATC) (XI)

Образцы (по 20 мкл), содержащие 5'-³²P-меченый олигонуклеотид (XI) (5×10^{-6} М) и фотоактивное олигонуклеотидное производное (XII) (5×10^{-5} М) в буфере 0.16 М NaCl – 0.02 М Na₂HPO₄ –

0.1 М EDTA (рН 7.5), помещали в 1-мм кювету, охлаждали вместе с металлическим кюветодержателем до 4°C и экспонировали 5 мин с использованием набора светофильтров БС-12, УФС-1 (303–365 нм). Реакционные смеси до и после обработки пиперидином (10% пиперидин, 40 мин, 100°C) анализировали с помощью гель-электрофореза в 20% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (8 М мочевины, 0.05 М трисборат, рН 8.3, 1 мМ EDTA). Денситометрические профили дорожек радиоавтографа получали, используя лазерный сканер (LKB Ultrosan XL, Швеция). Степень модификации определяли как отношение площади пика на денситограмме для соответствующей полосы к суммарной площади всех пиков.

Настоящая работа поддержана Международным научным фондом (Фонд Сороса) (грант № RCU 300) и грантом Государственной научно-технической программы “Новейшие методы биоинженерии” (направление “Тен-направленные биологически активные вещества”, проект 2, грант № 6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Добриков М.И., Дудко Р.Ю., Шишкин Г.В. // Биоорганич. химия. 1996. Т. 22. С. 191–199.
2. Добриков М.И., Зарытова В.Ф., Комарова Н.И., Левина А.С., Лохов С.А., Приходько Т.А., Шишкин Г.В., Табатадзе Д.Р., Заалишвили М.М. // Биоорганич. химия. 1992. Т. 18. С. 540–549.
3. Добриков М.И., Горн В.В., Зарытова В.Ф., Левина А.С., Приходько Т.А., Шишкин Г.В., Табатадзе Д.Р., Заалишвили М.М. // Биоорганич. химия. 1992. Т. 18. С. 1190–1196.
4. Левина А.С., Табатадзе Д.Р., Зарытова В.Ф., Добриков М.И., Горн В.В., Халимская Л.М., Шишкин Г.В. // Биоорганич. химия. 1994. Т. 20. С. 21–29.
5. Левина А.С., Табатадзе Д.Р., Зарытова В.Ф., Добриков М.И., Горн В.В. // Биоорганич. химия. 1994. Т. 20. С. 30–39.
6. Levina A.S., Berezovskii M.V., Venjaminova A.G., Dobrikov M.I., Repkova M.N., Zaritova V.F. // Biochimie. 1993. V. 75. P. 25–27.
7. Saundararajan N., Platz M.S. // J. Org. Chem. 1990. V. 55. P. 2034–2044.
8. Schnapp K.A., Platz M.S. // Bioconjugate Chem. 1993. V. 4. P. 178–183.
9. Leyva E., Chang D.H.S., Platz M.S., Watt D.S., Crocker P.J., Kawada K. // Photochem. Photobiol. 1991. V. 54. P. 329–333.
10. Shaffer M.W., Platz M.S. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 6465–6468.
11. Schuster G.B., Platz M.S. // Adv. Photochem. 1992. V. 17. P. 119–135.
12. Poe R., Schnapp A.K., Young M.J.T., Grayzar J., Platz M.S. // J. Am. Chem. Soc. 1992. V. 114. P. 5054–5067.

13. Schnapp K.A., Poe R., Leyva E., Saundararajan N., Platz M.S. // *Bioconjugate Chem.* 1993. V. 4. P. 172–177.
14. Лакович Дж. // *Основы флуоресцентной спектроскопии: Пер. с англ. М.: Мир, 1986. С. 262–344.*
15. Добриков М.И., Приходько Т.А., Сафронов И.В., Шишкин Г.В. // *Сиб. хим. журн.* 1992. Вып. 2. С. 18–23.
16. Михалина Т.В., Фокин Е.П. // *Изв. СО АН СССР. Сер. хим. наук.* 1988. Вып. 3. С. 92–95.
17. Зарьтова В.Ф., Комарова Н.И., Левина А.С., Лохов С.Г., Табатадзе Д.Р., Халимская Л.М., Александрова Л.А. // *Биоорг. химия.* 1991. Т. 17. С. 1059–1065.
18. Добриков М.И., Гайдамаков С.А., Кошкин А.А., Лукьянчук Н.П., Шишкин Г.В., Власов В.В. // *Докл. РАН.* 1995. Т. 344. С. 122–125.
19. Венямина А.Г., Горн В.В., Зенкова М.А., Комарова Н.И., Репкова М.Н. // *Биоорг. химия.* 1990. Т. 16. С. 941–950.
20. Cantor C.R., Tinoco J. // *J. Mol. Bio.* 1965. V. 13. P. 65–77.

Reagents for Directed Modification of Biopolymers.

VII.¹ Substituted Perfluoroaromatic Azides.

The Effect of Substituents on Photochemical Properties and Efficiency of Nucleic Acid Photomodification

M. I. Dobrikov,² R. Yu. Dudko, A. S. Levina, L. M. Khalimskaya*, and G. V. Shishkin

Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, pr. Akademika Lavrent'eva 8, Novosibirsk, 630090 Russia

**Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

Abstract—Photochemical properties of nine perfluoroaromatic and two aromatic azides were studied and compared by the pyridine-ylide method. The relative reactivity of the species formed upon photolysis was estimated. It was shown that elongation of the conjugation chain in perfluoroaromatic azides causes bathochromic and hyperchromic shifts in the absorption spectrum, enhances photoreactivity and the rate of the intersystem conversion of the generated nitrene. Triplet sensitization of the azide photolysis with a protic solvent, methanol, was studied. Oligonucleotide derivatives of *p*-azidotetrafluorobenzaldoxime and complementary-addressed photomodification of the target DNA were synthesized. Models for photomodification of nucleic acids in a complementary complex and in solution suited for testing aromatic azides were suggested. According to these models, directed photomodification of the target DNA occurs only in a tight complex, when the distance between the target base and azide is close to a sum of their van der Waals radii.

Key words: perfluoroaromatic azide, oligonucleotides, complementary-addressed photomodification.

¹ For VI see [1].

² To whom correspondence should be addressed.