

BBA 47100

PHOTOSENSIBILISATION DES CONSTITUANTS DES ACIDES NUCLEIQUES PAR LA PROFLAVINE

MECANISME DE FORMATION DE RADICAUX D'ADDITION D'HYDROGENE EN SOLUTIONS AQUEUSES GELEES

ALBERT VAN DE VORST, YVES LION et MICHEL SAUCIN

Département de Physique Atomique et Moléculaire, Université de Liège, 4000 Sart-Tilman par Liège 1 (Belgique)

(Reçu le 29 Octobre, 1975)

SUMMARY

Photosensitization of constituents of nucleic acids by proflavine. Mechanism of formation of hydrogen addition radicals in frozen aqueous solutions

It is shown that the insertion of nucleotides between proflavine molecules is favourable to photosensitization. Furthermore, (1) each molecule of proflavine gives at the most one free radical in the substrate, (2) the chromophore is largely restored when oxygen is not present, (3) superoxide radicals are observed in the presence of oxygen, and (4) formyl radicals are detected. The scheme elaborated for the mechanism gives an explanation for all these observations.

INTRODUCTION

Toute une série d'études ont permis de mettre en évidence la formation de radicaux libres dans des solutions gelées de biomolécules lors de leur photosensibilisation ($\lambda > 320$ nm) par divers types de chromophores [1-18], notamment des colorants dérivés de l'acridine [1, 2, 4-6, 8-18]. Dans le cas des constituants de l'ADN, ces radicaux libres sont essentiellement des radicaux d'addition d'hydrogène RH₂ et des radicaux peroxydes ROO, ces derniers nécessitant la présence de l'oxygène [10]. Du point de vue mécanisme, il est clairement établi que l'absorption de la lumière visible conduit à l'ionisation du colorant suite à un processus à deux photons, correspondant respectivement à $\lambda = 454$ nm et $320 < \lambda > 365$ nm, avec le premier état triplet comme intermédiaire [11]. L'électron ainsi libéré réagit avec des molécules de bases, nucléosides et nucléotides, pour donner des radicaux anioniques [15, 18], lesquels se transforment finalement en radicaux d'addition d'hydrogène, probablement par réaction avec des protons dont l'origine est encore mal déterminée. Une autre question non résolue jusqu'à présent concerne la formation des radicaux peroxydes. Selon les conclusions de Delmelle [19], ce sont les molécules d'oxygène excitées, suite à un transfert triplet-triplet, qui conduiraient à ces radicaux localisés

dans le substrat. Mais il ne peut être exclu que ceux-ci résultent d'une réaction avec l'oxygène dissous, du type $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$, $R\cdot$ étant le radical caractéristique du substrat à la température de l'azote liquide, comme ce fut effectivement suggéré pour la photosensibilisation d'autres systèmes [20, 21].

Le but de cette Note est d'analyser tout un ensemble de résultats nouveaux obtenus à l'aide de la résonance paramagnétique électronique (RPE) et de la spectrophotométrie d'absorption, en vue d'élaborer une proposition de mécanisme qui permette de répondre aux questions explicitées ci-dessus.

DISPOSITIF EXPÉIMENTAL

Les dispositifs expérimentaux utilisés, d'une part, pour les observations de RPE et d'autre part, pour les irradiations ($\lambda > 320$ nm) sont identiques à ceux décrits antérieurement [10]. Les intégrations des spectres ont été réalisées à l'aide d'un ordinateur Varian du type Spectrosystème 100: l'erreur absolue sur la mesure des intensités des spectres peut être estimée à 20 %. Les valeurs des facteurs g ont été déterminées par interpolation graphique entre les deux raies centrales de Mn^{2+} , comme expliqué précédemment [22]. Les mesures d'absorption optique furent réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre Cary 14, dans la cellule duquel était monté un dispositif à température variable semblable à celui utilisé dans les spectrographes RPE Varian. Les solutions aqueuses étaient gelées à 77 °K par immersion rapide dans l'azote liquide. Les échantillons dégazés étaient gelés après un barbotage d'azote durant 15 min. Tous les produits utilisés sont de provenance commerciale: proflavine hémisulfate (ϵ_M à 444 nm égal 33 500, pour des concentrations en proflavine inférieures à $4 \cdot 10^{-5} M$) de la firme British Drug Houses et constituants des acides nucléiques de la firme Calbiochem.

En général, chacune des séries d'expériences décrites dans ce travail a été exécutée trois fois: la reproductibilité des mesures quantitatives peut être estimée inférieure à 15 %.

RÉSULTATS EXPÉIMENTAUX

A. Observation par spectrophotométrie d'absorption du radical ion-positif de la proflavine

Il est connu [23, 24] que le radical ion-positif de la proflavine se caractérise, en matrice vitreuse à 77 °K, par une bande d'absorption dont le maximum est situé aux environs de 810 nm. Celle-ci est effectivement observée, en absence et en présence d'oxygène, à 77 °K dans H_2SO_4 , 6 M, lorsque le complexe proflavine ($10^{-3} M$)/nucléotide ($10^{-1} M$) est irradié avec des longueurs d'onde comprises entre 300 et 700 nm (filtre au $CuSO_4$). Dans le cas où les irradiations sont réalisées avec de la lumière correspondant à $400 < \lambda < 800$ nm (filtre Jenaer-Glasswerk Schott GG 400 doublé d'un filtre au $CuSO_4$), la bande d'absorption en cause n'est pas observée. Il en est de même lorsque des longueurs d'ondes supérieures à 320 nm (filtre Jenaer Glasswerk Schott WG345) sont utilisées pour l'irradiation. Ces résultats confirment une fois de plus la photoionisation à deux photons de la proflavine avec production de son radical ion positif.

B. Influence du pH sur le rendement en radicaux libres

Des expériences préliminaires [11] réalisées antérieurement dans H_2O et dans

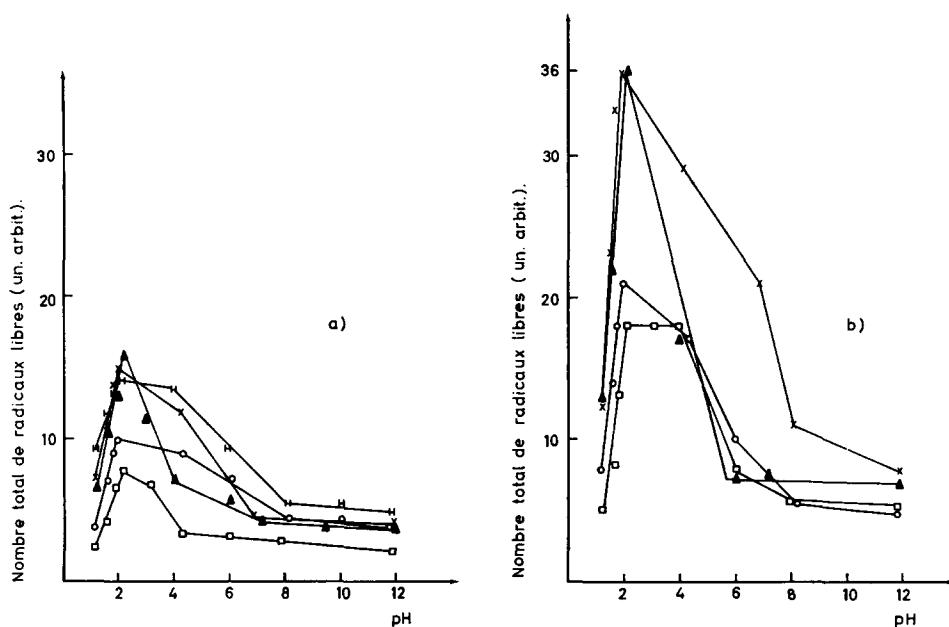


Fig. 1. Evolution du nombre total de radicaux libres (un. arbit.) induits dans les solutions gelées de nucléotides photosensibilisées par la proflavine en fonction du pH. Les différents pH sont obtenus en ajoutant des gouttes de HCl, $5 \cdot 10^{-1}$ M ou de NaOH, $5 \cdot 10^{-1}$ M aux solutions aqueuses dont les pH initiaux figurent dans le tableau I. Irradiation à 77°K avec $\lambda > 320$ nm. (a) en absence d' O_2 ; (b) en présence d' O_2 ; $\times - \times$, 5'-dAMP; $\blacktriangle - \blacktriangle$, 5'-dGMP; $\circ - \circ$, 5'-dTTP; $\square - \square$, 5'-dCMP; $H - H$, radicaux RH₂ dans la 5'-dTTP. Concentration en nucléotide: $5 \cdot 10^{-2}$ M. Concentration en proflavine: $5 \cdot 10^{-4}$ M.

NaOH, 10^{-2} M, ont donné des résultats identiques, suggérant que le pH n'influence pas le rendement radicalaire de la photosensibilisation des nucléotides par la proflavine. Dans cette étude, l'effet du pH a été analysé dans une gamme de valeurs s'étendant de 1.2 à 11.8, l'ajustement étant obtenu par addition aux solutions aqueuses dont les pH initiaux sont notés dans le tableau I, de gouttes de HCl $5 \cdot 10^{-1}$ M, ou de NaOH $5 \cdot 10^{-1}$ M suivant les cas. Il a été vérifié que la congélation et l'irradiation subséquente n'affectent pas le pH des solutions. Toutes les mesures d'intensité ont été réalisées sur des spectres obtenus après 30 min d'irradiation, durée qui correspond au plateau de saturation caractérisant la courbe de croissance des radicaux libres. Les courbes des figures 1a et 1b représentent l'évolution, en fonction du pH, du nombre de radicaux libres induits dans les quatre nucléotides de l'ADN, respectivement en l'absence et en présence d'oxygène. D'une manière générale, les spectres observés sous O_2 sont toujours les plus intenses et la différence avec les échantillons dégazés est particulièrement significative pour les pH acides, probablement, ainsi que nous le verrons dans la suite, à cause de la présence en quantité très importante de radicaux superoxydes HO_2 . D'autre part, l'analyse des résultats permet de décomposer le domaine de pH envisagé en trois zones: jusqu'à 2.0-2.2, le nombre total de radicaux libres augmente rapidement, il décroît ensuite de façon plus ou moins accentuée suivant le substrat, jusqu'à 8 environ. Au delà de cette valeur, la diminution s'accentue considérablement sans toutefois jamais s'annuler. Dans le cas de la 5'-dTTP, il en est de même pour l'évolution du

TABLEAU I

CARACTÉRISTIQUES DES SOLUTIONS AQUEUSES DE NUCLÉOTIDES*

Nucléotides	pH
5'-dAMP	8.9
5'-dGMP	7.4
5'-dCMP	3.7
5'-dTTP	6.5

* Concentration en nucléotide: $5 \cdot 10^{-2}$ M; concentration en proflavine: $5 \cdot 10^{-4}$ M.

nombre de radicaux d'addition d'hydrogène (Fig. 1a), ainsi qu'en témoigne la variation de la mesure des intensités des raies extrêmes de la structure hyperfine.

C. Nombre de radicaux libres induits par molécule de proflavine

Pour des conditions expérimentales identiques, c'est-à-dire pH, concentrations en substrat et en colorant, les rendements radicalaires de la photosensibilisation des nucléotides par la proflavine sont maximums dans les matrices aqueuses vitreuses. En outre, dans celles-ci, la présence de l'oxygène n'influence ni la forme, ni l'intensité du signal. C'est pourquoi la détermination du nombre de radicaux libres induits par

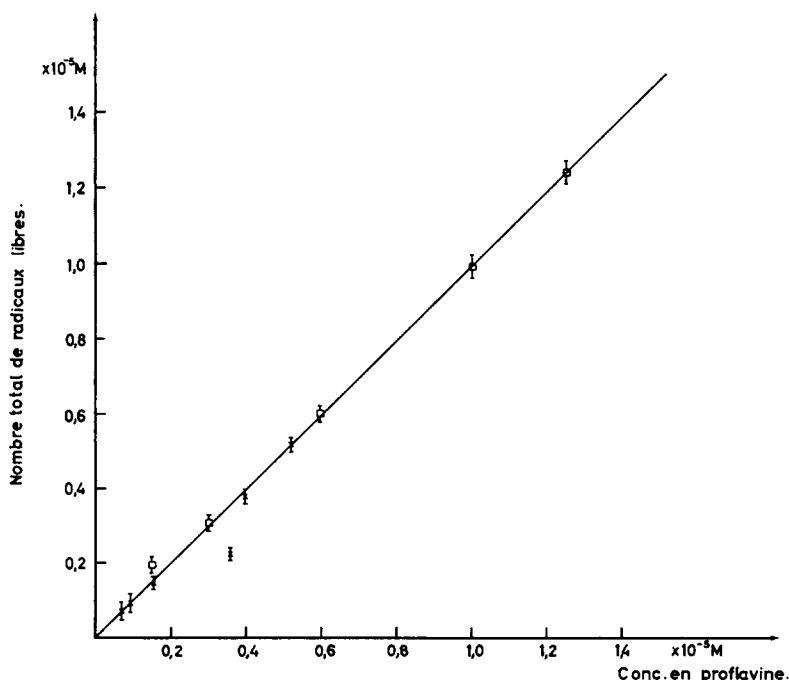


Fig. 2. Evolution du nombre total de radicaux libres induits dans des verres ($MgCl_2$, 3 M) de thymine (\times) et de 5'-dTTP (\square) photosensibilisés par la proflavine en fonction de la concentration en colorant. Irradiation à 77 °K avec $\lambda > 320$ nm.

molécule de proflavine a été effectuée dans des solutions aqueuses de $MgCl_2$, 3 M, et de LiCl, 12 M. L'échantillon de référence était une solution gelée de 2,2,6,6-tétraméthyl-pipéridine-*N*-oxyle, $3.46 \cdot 10^{-4}$ M, dont la dilution était chaque fois ajustée de façon à correspondre à un spectre d'intensité aussi voisine que possible de celle caractérisant la résonance de l'échantillon étudié. Dans les types de matrices utilisées, les résultats obtenus ne diffèrent pas entre eux de plus de 5 % et ils restent inchangés quel que soit le nucléotide photosensibilisé, pour autant que les concentrations en colorant soient inférieures à 10^{-4} M et que les concentrations en substrat soient comprises entre 10^{-2} et 10^{-1} M. La figure 2 illustre l'évolution du nombre total de radicaux libres dans la thymine et la 5'-dTMP ($2.5 \cdot 10^{-2}$ M) en fonction de la concentration en proflavine, le solvant étant une solution aqueuse de $MgCl_2$, 3 M (pH 4). Il est clair que les courbes relatives aux deux substrats en cause coïncident et qu'elles se caractérisent par une pente pratiquement égale à l'unité. En d'autres termes, le nombre de radicaux libres observés n'excèdent jamais le nombre de molécules de colorant présentes dans la solution. Sur le plan qualitatif, il faut remarquer qu'aucune trace d'un signal associé à une forme radicalaire du chromophore n'est décelée dans le spectre.

D. Décomposition ou restauration du photosensibilisateur

Les expériences décrites dans ce paragraphe ont pour but d'élucider si l'induction des radicaux observés implique ou non la décomposition du photosensibilisateur. Elles ont été réalisées dans une matrice vitreuse ($MgCl_2$, 3 M) suivant le plan ci-après: l'irradiation (30 min) et les observations de RPE sont faites une première fois à 77 °K. Les échantillons sont ensuite réchauffés 10 min à la température ordinaire puis sont à nouveau refroidis pour une autre photosensibilisation à la température de l'azote liquide.

Pour les bases, nucléosides et nucléotides caractéristiques de l'ADN, les résultats mettent en évidence un spectre RPE dont la forme est identique en tous points d'une fois à l'autre, mais dont l'intensité décroît ainsi que l'illustrent, pour la thymine et ses dérivés, les courbes des figures 3a et 3b. Alors que l'oxygène n'influencait pas le rendement de la première photosensibilisation, l'analyse de ces courbes montre que sa présence détermine une décroissance plus importante du signal, d'une irradiation à l'autre. Des observations parallèles ont été faites à l'aide de la spectrophotométrie d'absorption. Il est connu qu'en présence d'un substrat purique ou pyrimidique, le maximum de la bande d'absorption de la proflavine est déplacé vers les grandes longueurs d'onde à la température ordinaire [25, 26]. A basse température, le spectre présente un maximum situé vers 465 nm qui caractérise la proflavine complexée et un épaulement, vers 440 nm, probablement dû à la proflavine agrégée [27, 28]. Les mesures d'intensité ont été réalisées à 115 °K et à 300 °K, la photosensibilisation étant toujours effectuée à 77 °K. La figure 3c représente les résultats obtenus avec la 5'-dGMP comme substrat. Il est clair que les courbes relatives aux deux températures précitées coïncident et traduisent une diminution continue de l'absorption. La coïncidence de ces deux courbes indique, d'autre part, que les mesures peuvent être effectuées à la température ordinaire sans aucune influence sur le sens des variations mises en évidence. La figure 3d rassemble les résultats obtenus, dans ces conditions, respectivement avec la thymine, la thymidine et la thymidine-5'-monophosphate. Comme en résonance paramagnétique électronique, une décroissance de l'intensité

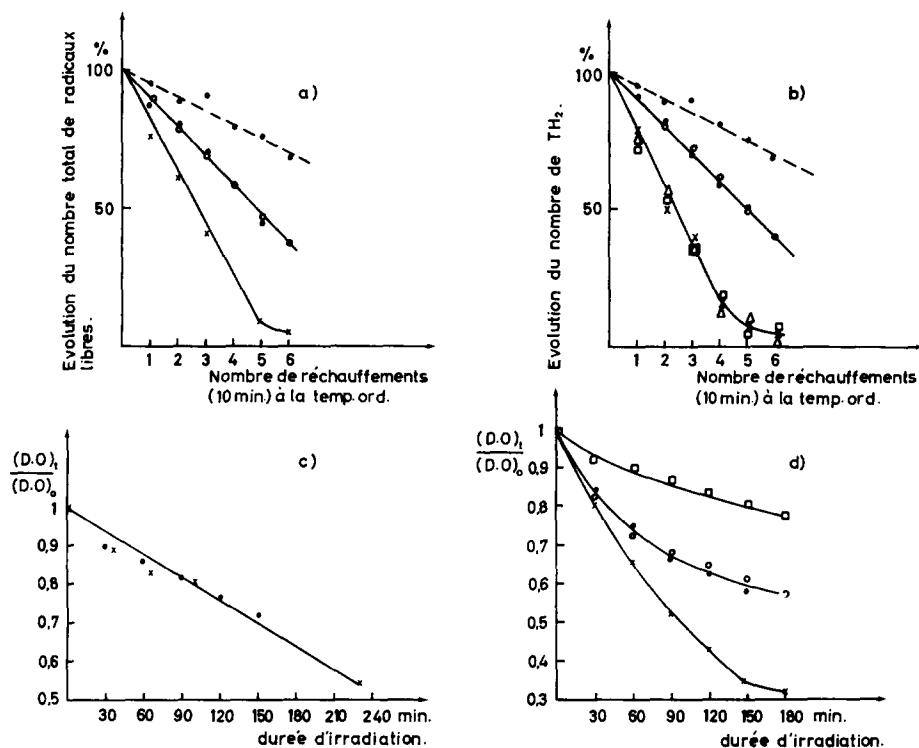


Fig. 3. Evolution (a) du nombre total de radicaux libres; (b) du nombre de radicaux d'addition d'hydrogène, induits dans des solutions gelées de thymine (X), thymidine (O) et 5'-dTMP (●) photosensibilisées par la proflavine en fonction du nombre d'irradiations successives ($\lambda > 320$ nm, $T = 77$ °K) d'un même échantillon. Après chaque irradiation, celui-ci est réchauffé 10 min à la température ordinaire. Traits interrompus: photosensibilisation en absence d' O_2 ; Traits continus: photosensibilisation en présence d' O_2 . Concentration en substrat: $2.5 \cdot 10^{-2}$ M. Concentration en proflavine: $2 \cdot 10^{-5}$ M; $4 \cdot 10^{-5}$ M; $8 \cdot 10^{-5}$ M; (c) de la densité optique du λ_{max} de la proflavine ($8 \cdot 10^{-5}$ M) en fonction de la durée d'irradiation ($\lambda > 320$ nm, $T = 77$ °K) en présence de dGMP et sous N_2 . X—X, mesure à basse température; ●—●, mesure à la température ambiante; (d) de la densité optique du λ_{max} de la proflavine ($8 \cdot 10^{-5}$ M) en fonction de la durée d'irradiation ($\lambda > 320$ nm, $T = 77$ °K) en présence de X—X, thymine; O—O, thymidine; ●—●, 5'-dTMP, sous O_2 et de 5'-dTMP, □—□, en absence d' O_2 . Mesure à la température ambiante.

plus rapide en présence qu'en absence d'oxygène est observée. Enfin, lorsque la photosensibilisation est réalisée avec de la lumière correspondant à des longueurs d'onde comprises entre 300 et 700 nm, la diminution de l'intensité du signal RPE est plus importante que si on utilise des longueurs d'onde supérieures à 320 nm, c'est-à-dire un domaine comprenant la bande d'absorption du radical cation de la proflavine ($\lambda_{\text{max}} = 810$ nm).

E. Rôle de l'oxygène: formation de peroxydes

1. *Radicaux superoxydes.* Pour des valeurs du pH voisines de 2, les spectres observés avec les quatre nucléotides sont identiques à celui illustré dans la figure 4a et relatif à la 5'-dTMP. On y décèle du côté des hauts champs, les traces de la structure latérale associée au radical d'addition d'hydrogène en C₆. La forme générale du

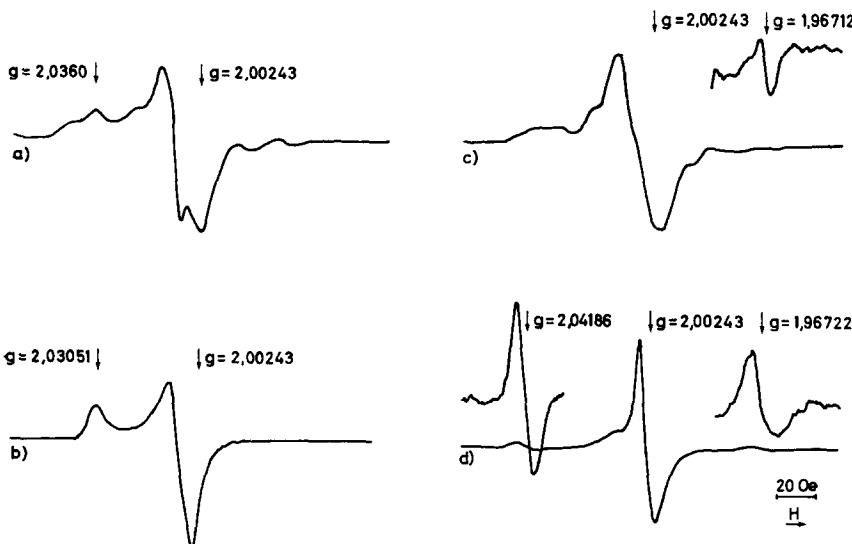


Fig. 4. Spectres de RPE obtenus par photosensibilisation ($\lambda > 320$ nm, $T = 77$ °K, proflavine, $5 \cdot 10^{-4}$ M) d'une solution de (a) 5'-dTMP ($5 \cdot 10^{-2}$, pH = 2); observation à 77 °K, en présence d' O_2 ; (b) identique à (a) après 5 min de réchauffement à 183 °K. Observation à 77 °K. (c) 5'-dAMP ($5 \cdot 10^{-2}$ M, pH = 2), après 5 min de réchauffement à 133 °K. Observation à 77 °K en absence d' O_2 . (d) Spectre de RPE obtenu par irradiation X (77 °K) (80 kV, 25 mA) d'une solution aqueuse de 5'-dAMP (10^{-1} M) après 5 min de réchauffement à 133 °K. Observation à 77 °K, en absence d' O_2 .

signal s'apparente étroitement à celle du spectre des radicaux HO_2 . On est renforcé dans cette opinion à l'analyse des valeurs de $g_{||}$ et g_{\perp} . Pour les spectres de la figure 4a, celles-ci sont respectivement égales à 2.0392 et 2.0046, les valeurs correspondantes pour les radicaux HO_2 , induits par photolyse de HI (4 °K) dans une matrice d'argon contenant de l'oxygène, s'élèvent à 2.0393 et 2.0044 [29]. Il est à noter que la valeur de $g_{||}$ reste inchangée d'un nucléotide à l'autre. Quant à la mesure de g_{\perp} , elle dépend de la présence sous-jacente d'autres espèces radicalaires dont l'influence se manifeste surtout dans le centre du signal: elle est égale respectivement à 2.0055, 2.0049 et 2.0046, pour la 5'-dAMP, 5'-dGMP et 5'-dCMP. Ces radicaux superoxydes disparaissent généralement entre 158 et 163 °K, ne laissant subsister que des radicaux d'addition d'hydrogène RH_2^{\cdot} et des radicaux peroxydes ROO^{\cdot} . Ces derniers sont facilement identifiables par une disymétrie très nette du pic central et une résonance unique du côté des bas champs, dont le maximum est caractérisé par une valeur de g égale à 2.0305 (Fig. 4b).

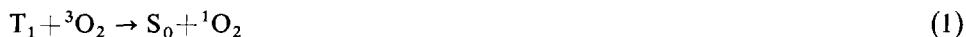
Formation des radicaux ROO^{\cdot} . Dans la glace, après une élévation de température de 77 à 183 °K, soit directement, soit par paliers successifs, seuls des radicaux ROO^{\cdot} sont encore observés jusqu'à 215 °K environ. En présence d'un piégeur d'électrons comme KNO_3 , les RH_2^{\cdot} ne sont pas formés et le réchauffement jusqu'à 183 K ne fait pas apparaître de ROO^{\cdot} . En outre, ainsi qu'il ressort de l'analyse des résultats du tableau II, la température à laquelle s'effectue la transformation en cause dépend de la nature de la matrice. Cet ensemble de constatations est en faveur d'une transformation liée à la diffusion de l'oxygène. À 77 °K, celle-ci n'influence pas la population de

TABLEAU II

TEMPÉRATURE D'APPARITION DES ROO· DANS DIFFÉRENTES MATRICES

Système	Matrice	Température d'apparition (° K)
Proflavine + nucléotide	H ₂ O	183
Proflavine + nucléotide	H ₂ SO ₄ 1 M	160
Proflavine + Me ₂ SO	Me ₂ SO/H ₂ O (1:1)	165

l'état triplet du chromophore [30] et, de plus, peu de radicaux ROO sont observés. Par contre, si la photosensibilisation est réalisée à 205 °K, par exemple, l'oxygène peut diffuser dans la matrice et dépeupler cet état triplet, probablement par un transfert du type:



S₀ et T₁ représentant le photosensibilisateur respectivement dans l'état fondamental et dans l'état triplet le plus bas. En conséquence, aucun peroxyde n'est observé mais le nombre total de radicaux est plus faible qu'en l'absence d'oxygène et cette différence est particulièrement significative dans le cas des dérivés pyrimidiques (Tableau III). En présence de NaN₃ (10⁻³–10⁻¹ M), qui diminue la durée de vie de ¹O₂ [31], les seuls radicaux observés sont des peroxydes.

F. Présence de radicaux formyles

D'une manière générale, pour les systèmes proflavine-nucléotides, lorsqu'on élève la température de l'échantillon de 77 à 133 °K, on voit se préciser dans le spectre (Fig. 4c) une raie caractérisée par une valeur de *g* égale à 1.96712. Celle-ci correspond en position, forme et largeur à une des deux composantes du signal obtenu par irradiation X de solutions aqueuses des nucléosides et nucléotides constitutants des acides nucléiques (fig. 4d) et attribué à des radicaux formyles HCO [32]. La raie en cause est particulièrement intense dans le cas des dérivés puriques et plus spécialement dans la 5'-dAMP. En outre, son intensité est indépendante de la présence de l'oxygène.

TABLEAU III

NOMBRE TOTAL DE RADICAUX INDUITS PAR PHOTOSENSIBILISATION À 205 °K DE SOLUTIONS AQUEUSES DE NUCLÉOTIDES*

Nucléotide (× 10 ⁻¹ M)	Nombre total de radicaux	
	en présence d'O ₂ (unit. arbit.)	en absence d'O ₂ (unit. arbit.)
5'-dAMP	12	15
5'-dCMP	12	20
5'-dGMP	16	19
5'-dTTP	6	25

* Concentration en proflavine: 5 · 10⁻⁴ M.

DISCUSSION

A l'heure actuelle, il ne fait pas de doute que c'est la forme protonée de la proflavine qui est photosensibilisatrice [30]. C'est ce qui explique l'observation d'un rendement radicalaire maximum dans une zone de pH où cette forme du colorant prédomine. La diminution observée dans le nombre de radicaux induits pour des valeurs du pH approchant 8, alors que la population de l'état triplet du chromophore reste pratiquement constante [30], paraît indiquer que les modifications de l'état chimique du substrat influencent le processus d'induction en cause. Il ne peut être exclu, en effet, que celles-ci s'accompagnent d'une variation du pouvoir accepteur d'électron du nucléotide ou d'une altération de ses interactions par empilement avec le photosensibilisateur, ces deux conséquences n'étant pas nécessairement liées. Au niveau de l'ADN l'intercalation des molécules de proflavine entre les paires de bases est un facteur favorable à la photosensibilisation [17]. Dans les mélanges nucléotide/proflavine, il en est de même pour l'insertion des molécules de substrat entre les molécules de colorant: à pH constant, cette insertion augmente non seulement la population de l'état triplet du chromophore par désagrégation [30], mais elle facilite en outre le transfert des électrons, émis par photosensibilisation, le long des molécules empilées [33].

En ce qui concerne les conclusions de ce travail; elles peuvent se résumer en quatre points. Au cours de la photosensibilisation des nucléotides:

1. Chaque molécule de proflavine donne naissance, au maximum, à un radical libre dans le substrat.

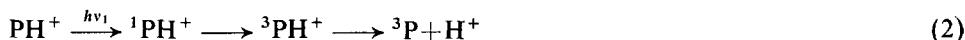
2. Le chromophore est largement restauré en l'absence d'oxygène: la destruction observée sous N₂ pouvant notamment résulter de la présence d'une certaine quantité d'O₂ résiduel.

3. En présence d'oxygène, des radicaux superoxydes sont induits dans le milieu.

4. Des radicaux formyles sont observés.

A ce propos, l'analyse des radicaux libres induits par radiolyse de solutions gelées de nucléotides [32] a montré que ces radicaux HCO proviennent d'une réaction de radicaux OH et de produits de dégradation de la partie pentose. Il peut en être de même pour la photosensibilisation, puisqu'aussi bien la libération du ribose est une des conséquences importantes de l'action photodynamique de l'acridine orange, par exemple, sur la guanosine [34]. Dans ces conditions, l'observation de radicaux formyles pourrait être considérée comme une preuve indirecte de l'induction de radicaux hydroxyles dans le milieu, lors de la photosensibilisation par la proflavine.

En partant de ces conclusions, le schéma général suivant peut être proposé. Le potentiel d'ionisation de PH⁺ étant supposé plus élevé que celui de P, le processus de photoionisation à deux photons peut se résumer comme suit:



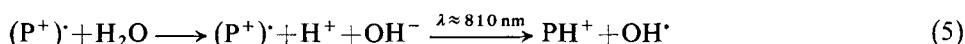
A partir des électrons émis, peuvent être formés les radicaux anions de la base (réaction 4a) qui, par réaction avec les protons libérés en (2) conduisent finalement aux radicaux d'addition d'hydrogène (réaction 4b). Si l'oxygène est présent, on doit

s'attendre à ce qu'il piège les électrons et donne ainsi des radicaux O_2^- (réaction 4c), dont la forme protonée est effectivement observée.

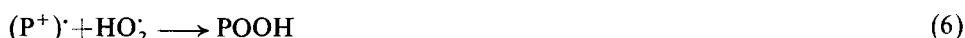


Cette compétition entre les molécules d'oxygène et celles de substrat pour la capture des électrons permet de comprendre pourquoi le nombre de radicaux d'addition d'hydrogène est toujours plus faible lorsque ce gaz est dissous dans la matrice. Il est à noter que l'on ne peut exclure à priori la formation d'atomes d'hydrogène à partir des protons du solvant. Mais dans la glace à 77 °K, ces atomes ne sont pas suffisamment stables pour être observés [35].

Quant à la restauration du chromophore, elle peut résulter d'une réaction du type:



favorisée par l'irradiation dans la bande du radical cation et en présence d'oxygène compétitive de la réaction (6)



qui conduit alors à la destruction du photosensibilisateur. Dans ces conditions, ce seraient les radicaux OH libérés par la réaction (5) qui induiraient finalement les radicaux formyles.

RÉSUMÉ

Il est montré que l'insertion des molécules de nucléotides entre celles de proflavine favorise la photosensibilisation. De plus, (1) chaque molécule de proflavine donne naissance, au maximum, à un radical libre dans le substrat, (2) le chromophore est largement restauré en l'absence d'oxygène, (3) des radicaux superoxydes sont observés en présence d'oxygène, et (4) des radicaux formyles sont détectés. Le schéma élaboré pour le mécanisme permet de rendre compte de toutes ces observations.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Azizova, O. A., Kayushin, L. P. et Pulatova, M. K. (1966) Biofizika 11, 970-976
- 2 Azizova, O. A., Gribova, Z. P., Kayushin, L. P. et Pulatova, M. K. (1966) Photochem. Photobiol. 5, 763-770
- 3 Santus, R., Helene, C. et Ptak, M. (1966) C. R. Acad. Sci. 262 D, 2077-2080
- 4 Delmelle, M. et Duchesne, J. (1967) C. R. Acad. Sci. Paris 264, 138-140
- 5 Delmelle, M. et Duchesne, J. (1967) C. R. Acad. Sci. Paris 264, 1651-1652
- 6 Kubota, Y. et Miura, M. (1967) Bull. Chem. Soc. Jap. 40, 2989
- 7 Kirkiacharian, B. S., Santus, R. et Helene, C. (1969) Ann. Pharm. Fr. 27, 129-134
- 8 Graslund, A., Rigler, R. et Ehrenberg, A. (1969) FEBS Lett. 4, 227-230
- 9 Van de Vorst, A. (1971) Photochem. Photobiol. 13, 321-336
- 10 Van de Vorst, A. et Lion, Y. (1971) Biochim. Biophys. Acta 238, 417-428
- 11 Van de Vorst, A. et Lion, Y. (1971) Biochim. Biophys. Acta 246, 421-429

- 12 Walrant, P. et Van de Vorst, A. (1972) *Biofizika* 17, 965–970
13 Delmelle, M. et Duchesne, J. (1972) *Res. Prog. Org. Biol. Med. Chem.* 3, 214–231
14 Van de Vorst, A. et Lion, Y. (1973) *Biochim. Biophys. Acta* 294, 349–355
15 Van de Vorst, A. et Lion, Y. (1973) dans "Physico-Chemical Properties of Nucleic Acids", (J. Duchesne éd.), Vol. 1, pp. 269–299, Academic Press, London
16 Lion, Y. et Van de Vorst, A. (1974) *Radiat. Environ. Biophys.* 11, 239–245
17 Calberg-Bacq, C. M. et Van de Vorst, A. (1974) *Photochem. Photobiol.* 20, 433–439
18 Graslund, A., Rupprecht, A. et Strom, G. (1975) *Photochem. Photobiol.* 21, 153–157
19 Delmelle, M. (1969) Thèse de Doctorat, Liège
20 Judeikis, H. S. et Siegel, S. (1965) *J. Chem. Phys.* 43, 3638–3644
21 Kholmogorov, V. E., Baranov, E. V. et Terenin, A. N. (1963) *Dokl. Akad. Nauk. S.S.R.* 149, 142–145
22 Lion, Y. et Van de Vorst, A. (1971) *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* 3, 521–525
23 Lim, E. C., et Swenson, G. W. (1963) *J. Chem. Phys.* 39, 2768–2769
24 Lim, E. C., Lazzara, C. P., Yang, M. Y. et Swenson, G. W. (1965) *J. Chem. Phys.* 43, 970–974
25 Tomita, G. (1967) *Biophysik* 4, 118–128
26 Tomita, G. (1968) *Z. Naturforsch.* 23b, 922–925
27 Kubota, Y. (1970) *Bull. Chem. Soc. Jap.* 43, 3121–3125
28 Kubota, Y. (1970) *Bull. Chem. Soc. Jap.* 43, 3126–3130
29 Adrian, F. S., Cochran, E. L. et Bowers, V. A. (1967) *J. Chem. Phys.* 47, 5441–5442
30 Lion, Y., Saucin, M. et Van de Vorst, A. (1975) *Radiat. Environ. Biophys.* 12, 337–344
31 Hasty, H., Merkel, P. B., Radlich, R. et Kearns, D. R. (1972) *Tetrahedron Lett.* 1, 49–52
32 Cannistraro, S., Lion, Y. et Van de Vorst, A. (1975) *Radiat. Res.* 64, 581–592
33 Van de Vorst, A. et Lion, Y. (1975) *Photochem. Photobiol.* 21, 85–89
34 Sivarama Sastry, K. et Gordon, M. P. (1966) *Biochim. Biophys. Acta* 129, 42–48
35 Kevan, L., (1968) dans *Radiation Chemistry of Aqueous Systems* (G. Stein, éd.) pp. 21–71 Weissman Science Press