

Окислительная деградация нуклеиновых кислот

Д.Г.Кнорре, О.С.Федорова, Е.И.Фролова

Новосибирский институт биоорганической химии СО Российской академии наук
630090, Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева, 8, факс (383-2) 35-16-65

В статье систематизированы и обобщены химические механизмы окислительной деградации нуклеиновых кислот.
Библиография – 141 ссылка.

Оглавление

I. Введение	70
II. Активированные кислородные частицы	70
III. Окисление гетероциклов в составе нуклеиновых кислот	73
IV. Окисление углеводных фрагментов в составе нуклеиновых кислот	80
V. Заключение	89

I. Введение

Окислительная деградация нуклеиновых кислот, вызываемая активными формами кислорода, представляет интерес с нескольких точек зрения.

Во-первых, в аэробных организмах в результате биохимических процессов и при различных физических и химических воздействиях (ионизирующее излучение, УФ и т.д.) образуются свободные радикалы и активированные кислородные частицы: супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$), пероксид водорода (H_2O_2) и свободный гидроксильный радикал ($\cdot OH$).¹⁻⁴ Индуцируемые ими повреждения ДНК играют важную роль в процессах мутагенеза, канцерогенеза, старения и других.

Во-вторых, многие кислородзависимые противоопухолевые препараты (блеомицин) и низкомолекулярные комплексы ионов металлов переменной валентности (Cu-1,10-фенантролин, Fe-EDTA, Fe- или Mn-порфирины и т.п.) эффективно катализируют расщепление нуклеиновых кислот при участии активных форм кислорода.⁵⁻⁹

В-третьих, в последнее время все больше внимание исследователей обращается на конструирование синтетических молекул, способных специфично связываться с ДНК и расщеплять сахарофосфатный остов, аналогично природным антибиотикам типа блеомицина. Такие соединения могли бы найти применение при создании так называемых "химических рестриктаз", т.е. реагентов, которые аналогично эндонуклеазам рестрикции расщепляют нуклеиновые кислоты вблизи определенных последовательностей, и химиотерапевтических препаратов, селективно повреждающих нуклеиновые кислоты.¹⁰

II. Активированные кислородные частицы

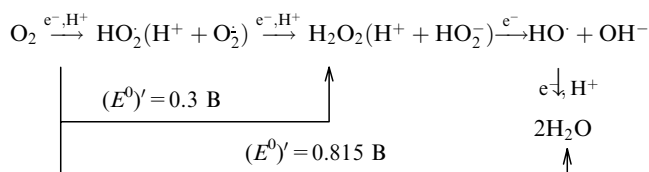
Молекулярный кислород является четырехэлектронным окислителем и его ступенчатое восстановление до воды

может быть представлено схемой¹¹⁻¹³:

$$E_{O_2/O_2^{\cdot-}}^0 = -0.16 \text{ В}; E_{HO_2^{\cdot}/HO_2^-}^0 = 0.74 \text{ В}$$

$$E_{HO_2^-/HO_2^{\cdot-}}^0 = 1.9 \text{ В}$$

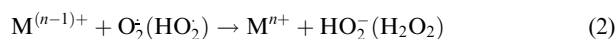
$$E_{O_2/HO_2^{\cdot}}^0 = 0.13 \text{ В}; E_{HO_2^{\cdot}/H_2O_2}^0 = 1.43 \text{ В}$$



Молекулярный кислород в водном растворе, как при восстановлении до H_2O , так и до H_2O_2 , является сильным окислителем – значения $(E^0)'$ составляют, соответственно, 0.815 и 0.3 В. Однако непосредственное окисление кислородом, как двух-, так и четырехэлектронное, практически не происходит. Это в первую очередь связано с тем, что основное состояние молекулы O_2 – триплетное, тогда как для большинства органических субстратов и продуктов их окисления основным является синглетное состояние. Поэтому прямая реакция триплетного O_2 с молекулой субстрата запрещена по спину.

Известно несколько способов преодоления этого ограничения: 1) проведение последовательного одноэлектронного восстановления молекулы кислорода до H_2O в соответствии со схемой так, чтобы каждая отдельная элементарная реакция была разрешена по спину; 2) активация кислорода ферментами или путем образования комплексов с ионами переходных металлов; 3) перевод молекул O_2 в возбужденное синглетное состояние.

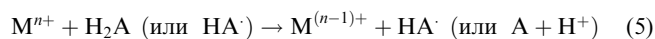
Последовательное одноэлектронное восстановление O_2 проще всего может быть осуществлено с использованием ионов металлов переменной валентности. Чаще всего с этой целью используют ионы железа и меди. Процесс описывается схемой:



Д.Г.Кнорре. Академик, директор института, т. (383-2) 35-64-41
О.С.Федорова. Кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела исследований модификации биополимеров
Е.И.Фролова. Кандидат химических наук, младший научный сотрудник отдела биохимии нуклеиновых кислот, НИБХ СО РАН

Дата поступления 15 августа 1992 г.

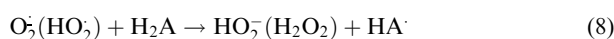
Участие иона металла особенно существенно на первой стадии, поскольку восстановление O_2 до $O_2^{\cdot-}$ характеризуется низким значением окислительно-восстановительного потенциала $E^0 = -0.16$ В, т.е. термодинамически невыгодно.¹¹ Поскольку предпочтительным является использование каталитических количеств ионов металла, то протекание этих реакций требует присутствия сопряженного, легко окисляемого субстрата H_2A (аскорбиновая кислота, тиолы и т.п.) для восстановления иона металла (5):



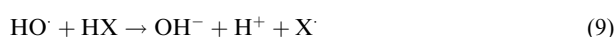
Реакция (1) обратима, и частично регенерация $M^{(n-1)+}$ может проходить по реакции (6):



Величины констант скорости конкурирующих реакций (2) и (6), как правило, близки и в значительной мере определяются¹⁴ значением E^0 для пары $M^{n+}/M^{(n-1)+}$. Помимо реакции (2) супероксидный радикал может превращаться в пероксид водорода также путем диспропорционирования (7) или по реакции со вспомогательным восстановителем (8):



Образующийся пероксид водорода далее превращается по реакции (3). Радикал $OH^{\cdot}$ является самым сильным окислителем из всех рассмотренных кислородных частиц, и может восстанавливаться не только ионом металла (4), но также может принимать электрон или отщеплять атом водорода от многих органических субстратов (9):



Более детально процессы восстановления молекулярного кислорода с участием ионов металлов переменной валентности освещены в различных обзорах, например^{15, 16}.

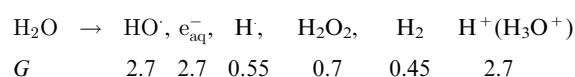
Одно- и двухэлектронное восстановление молекулярного кислорода в живых организмах происходит в ходе различных биохимических процессов.⁴ Образование супероксидного радикала катализируется большинством $NAD(P)H$ -зависимых оксидаз, функционирующих в составе мембранных комплексов¹⁷ и флавинзависимых оксидаз, таких как ксантин-оксидаза.¹⁸ При нормальном функционировании митохондриальной дыхательной цепи $O_2^{\cdot-}$ образуется в небольших количествах, но при различных нарушениях в работе митохондрий генерация $O_2^{\cdot-}$, как и других активных кислородных частиц, резко возрастает.¹⁹

Кислород может восстанавливаться до $O_2^{\cdot-}$ и некоторыми долгоживущими органическими радикалами (например, семихиноновыми радикалами), образующимися при ферментативном или фотовосстановлении антрахиноновых антибиотиков, рибофлавина и некоторых других.²⁰

Пероксид водорода может образовываться в результате диспропорционирования (7) как самопроизвольного, так и катализируемого специальными ферментами, супероксид-дисмутазами. Прямое ферментативное восстановление O_2 до H_2O_2 без промежуточного образования $O_2^{\cdot-}$ характерно для метаболических процессов, протекающих в нейтрофилах и пероксисомах,²¹ и осуществляется, например, в реакциях, катализируемых аминooksидазами.²²

Генерация гидроксильных радикалов *in vivo* обусловлена в первую очередь, по-видимому, восстановлением O_2 или H_2O_2 ионами переходных металлов.^{6, 23, 24}

Образование активных кислородных частиц происходит и при различных внешних воздействиях на живые организмы, например, при воздействии ионизирующего излучения. Вследствие радиолиза воды²⁵⁻²⁷ образуются следующие продукты:²⁷

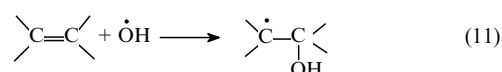
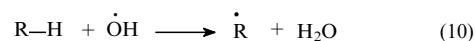


где G – радиационно-химический выход (в разбавленных растворах), равный количеству частиц, образующихся на 100 эВ поглощенной энергии. В аэрированных водных растворах сольватированный электрон e_{aq}^- и $H^{\cdot}$ очень быстро взаимодействуют с O_2 , давая супероксидные радикалы $O_2^{\cdot-}$ или $HO_2^{\cdot}$. Далее как H_2O_2 , так и $O_2^{\cdot-}$ могут восстанавливаться ионами переходных металлов до OH -радикалов.

Все это приводит к тому, что основными частицами в аэрированных растворах, отвечающими за окисление различных субстратов при воздействии ионизирующего излучения, являются OH -радикалы (>90%). При исследовании реакций с участием OH -радикала проводят радиолиз растворов в присутствии закиси азота N_2O , которая способствует переводу e_{aq}^- в OH -радикал.

Из рассмотренных интермедиатов восстановления O_2 основную роль в окислительной деструкции ДНК играют OH -радикалы. Супероксидный радикал в физиологических условиях не способен окислять органические субстраты. В работе²⁸ с использованием различных систем генерации $O_2^{\cdot-}$ показано, что он не участвует в окислительной деструкции нуклеиновых кислот. Точно так же не окисляет ДНК в физиологических условиях H_2O_2 .²⁹⁻³² Однако введение в те же системы ионов переходных металлов, катализирующих восстановление до OH -радикалов как супероксидного радикала, так и пероксида водорода по реакциям (2), (3) и (7), приводит к деструкции нуклеиновых кислот.²⁸⁻³⁰

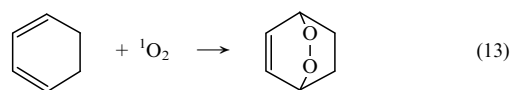
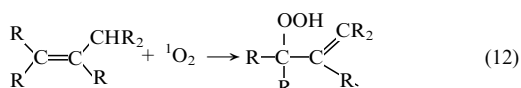
Радикал $OH^{\cdot}$ является сильным окислителем и обладает высокой реакционной способностью. В физиологических условиях он в состоянии отщеплять атом водорода от связи $C-H$ (10) или присоединяться по ненасыщенным двойным связям $C=C$ (11):



Скорости реакций присоединения по двойным связям обычно выше, чем скорости реакций отщепления атома водорода от связи $C-H$.³³

Радикалы $OH^{\cdot}$ взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами и модельными соединениями, такими как нуклеозиды и нуклеотиды, с константами скорости, близкими к диффузионно-контролируемому (табл. 1).^{25, 26, 33} Преобладающими процессами являются присоединение по двойным связям гетероциклов и отрыв атомов H от $C-H$ -связей пентозы с образованием соответствующих свободных радикалов. В аэрированных растворах эти радикалы быстро взаимодействуют с кислородом, образуя пероксирадикалы. Дальнейшие превращения, приводящие в итоге к модификации гетероциклов или расщеплению пентозофосфатного остова, будут рассмотрены в следующих разделах обзора.

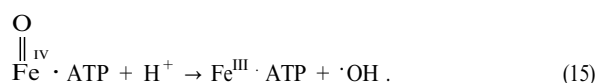
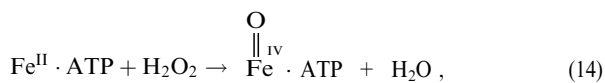
В результате фотосенсибилизации, а также в качестве побочного продукта в ряде процессов биологического окисления может образовываться синглетный кислород.³⁴ Синглетный кислород, несмотря на свою значительную реакционную способность, не может реагировать с алканами и многими ароматическими системами. Наиболее характерным для него является взаимодействие с алкенами с образованием аллилпероксидов (12) или эндопероксидов (13).³⁵



Показано, что синглетный кислород не окисляет сахарофосфатный остов нуклеиновых кислот,^{36,37} но селективно взаимодействует с остатками гуанина, образуя в результате модифицированные фрагменты, по которым при обработке в щелочных условиях может происходить расщепление сахарофосфатного остова.²⁸

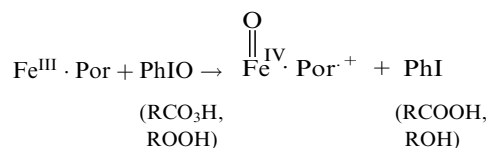
Восстановление кислорода ионами металлов переменной валентности может происходить с предварительным координированием O_2 или частиц, соответствующих его частичному восстановлению. В результате образуются оксокомплексы металлов, находящихся в высоковалентных состояниях (Fe или Mn в состояниях окисления +4 или +5, Cu — +3 и т.п.).³⁸

Такие комплексы могут либо непосредственно выступать в качестве окисляющих агентов, либо генерировать ОН-радикалы с переходом металла в более низкую степень окисления. Последний вариант предполагается, например, для комплексов $\text{Fe} \cdot \text{ATP}$:³⁹



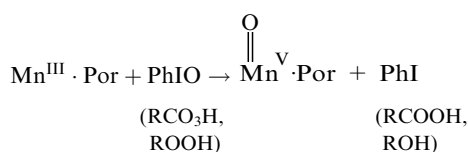
Такие оксокомплексы были выделены и охарактеризованы различными химическими и физическими методами для железопорфиринов.⁴⁰⁻⁴⁶ Показано, что они могут быть получены по реакции двухэлектронного окисления железо(III)-порфиринов перкислотами, гидропероксидами или иодозо-

бензолом (Por — порфирин):

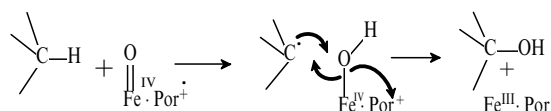


Для железопорфиринов общепринята структура оксокомплекса, содержащая железо в степени окисления +4 и катион-радикал порфирина, стабилизированный делокализацией в π -системе макроцикла.^{42, 46}

Образование высоковалентных металлооксочастиц обнаружено и для порфириновых комплексов других переходных металлов. Однако в комплексах марганца и хрома⁴⁷ макроциклический лиганд не участвует в окислении и металл имеет степень окисления +5.

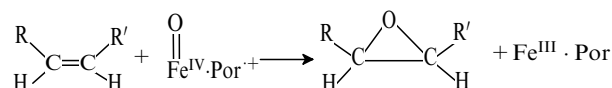


Такие оксокомплексы высоковалентных металлов являются, по-видимому, более слабыми окислителями, чем ОН-радикалы.⁴⁸ Для них характерны следующие типы реакций: внедрение атома кислорода по связям C—H (гидроксилирование) или присоединение по связям C=C (эпоксидирование). Считается, что при гидроксилировании алканов на первом этапе происходит отрыв атома H от связи C—H с последующим переносом ОН-радикала из оксокомплекса на алкильный радикал по схеме:⁴⁹⁻⁵¹



Селективность реакции достигается преимущественно за счет ориентации атома кислорода в комплексе по отношению к определенным связям C—H окисляемой молекулы.⁵² По такому же механизму происходит гидроксилирование альдегидов с образованием карбоновых кислот.^{53, 54}

Эпоксидирование алкенов осуществляется путем внедрения атома кислорода по двойной связи $\text{C}=\text{C}$:⁴⁷



Окислительная деструкция ДНК лежит в основе действия группы антибиотиков класса блеомицина (Blm). Предполагается,^{7, 55, 56} что в этом процессе принимают участие частицы типа $\text{Blm} \cdot \text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$.

Для окислительной деструкции ДНК широкое применение нашла система пероксид водорода — комплекс Cu-1,10-фенантролин. Существуют две точки зрения на механизм окислительного расщепления ДНК в такой системе. Согласно одной, за окисление отвечает связанная с металлом частица, эквивалентная ОН-радикалу.^{57, 58} Согласно другой, более широко принятой точке зрения, Cu-фенантролиновый комплекс, связываясь с ДНК и взаимодействуя с H_2O_2 в присутствии восстановителей, генерирует ОН-радикалы^{8, 59, 60} по механизму, аналогичному описываемому реак-

Таблица 1 Константы скорости взаимодействия ОН-радикалов с нуклеиновыми кислотами и их компонентами в нейтральных условиях

Компонент	$k \cdot 10^9, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$
Гетероциклы	
Тимин	5.6
Цитозин	4.7
Урацил	5.2
Аденин	4.4
Пентозы	
Рибоза	1.6
Рибоза-5'-фосфат	1.3
Нуклеозиды	
Тимидин	4.8
Цитидин	4.8
Уридин	4.3
Аденозин	4.0
Нуклеотиды	
TMP	5.3
CMP	4.5
dCMP	4.4
AMP	3.0
dAMP	3.5
dGMP	5.0
Полинуклеотиды	
poly (C)	1.2
poly (U)	1.25
poly (A)	0.9
poly (U + A)	0.5
ДНК	0.3-0.8

циями (14), (15) для комплексов Fe-ATP.³⁹ В результате в системе функционируют как свободные, так и связанные с металлом ОН-радикалы.

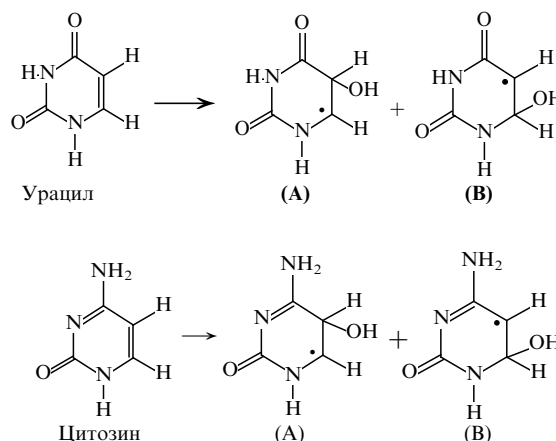
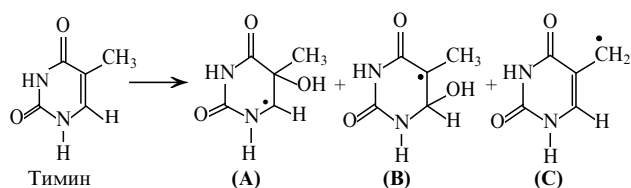
Таким образом, суммируя все изложенное выше, можно сказать, что за деструкцию нуклеиновых кислот в различных окислительных условиях отвечают прежде всего свободные гидроксильные радикалы, являющиеся продуктами трехэлектронного восстановления молекулярного кислорода, в некоторых системах — координированные кислородные частицы в форме оксокомплексов металлов, находящихся в высоких состояниях окисления.

III. Окисление гетероциклов в составе нуклеиновых кислот

Наиболее детально окислительная модификация гетероциклов нуклеиновых кислот гидроксильными радикалами исследована при γ -радиолизе, поскольку этот метод генерации ОН-радикалов позволяет исключить участие других активных частиц. В результате этих исследований выделено большое число продуктов модификации гетероциклов и для некоторых установлены механизмы образования. Эти исследования были в основном выполнены на свободных гетероциклах и нуклеозидах. Дальнейшие исследования на нуклеиновых кислотах показали, что данные, полученные на модельных соединениях, в большей части могут быть перенесены на окисление полимерных молекул. Наибольший прогресс достигнут в изучении окисления пиримидиновых гетероциклов.^{25, 26, 61}

1. Анаэробное окисление пиримидиновых гетероциклов

Гидроксильные радикалы являются электрофилами и предпочтительно атакуют сайты с высокой электронной плотностью, образуя свободные радикалы гетероциклов. Структура этих радикалов была в основном охарактеризована по структуре продуктов, образующихся при γ -радиолизе в присутствии спиновых ловушек — 2-метил-2-нитрозопропана или α -(1-гидрокси-4-пиридил)-N-трет-бутилнитрона.⁶²⁻⁶⁶ Установлено, что в результате реакции с пиримидинами ОН-радикалы присоединяются к С(5)- или С(6)-углеродным атомам, образуя радикалы типа (А) и типа (В), а для тимина наблюдается также отщепление атома Н от метильной группы у С(5) с образованием радикала типа (С):



Образующиеся три типа свободных радикалов различаются по своим окислительно-восстановительным свойствам. Радикалы типа (А), принадлежащие к α -аминоалкильному типу, обладают свойствами восстановителей и могут быть количественно определены по реакции с окислителями, такими как бензохинон, тетранитрометан, феррицианид. Радикал (С) тимина также является восстановителем, хотя и более слабым, но может быть определен по реакции с сильными окислителями. Радикалы типа (В), наоборот, обладают окислительными свойствами, благодаря наличию мезомерной формы — оксирадикала, и могут быть определены с помощью восстановителей, таких как N,N,N',N'-тетраметилфенилендиамин и аскорбиновая кислота. Такие различия в окислительно-восстановительных свойствах образующихся радикалов позволили создать метод их количественного определения, основанный на проведении импульсного радиолиза в присутствии соответствующих окислителей и восстановителей с последующим определением их расхода.⁶⁷ С помощью этого метода было установлено,⁶⁸⁻⁷⁰ что для всех пиримидинов характерно преимущественное присоединение ОН-радикалов по С(5)-положению гетероциклов: для цитозина — 87%, для урацила — 80%, для тимина — 56%. Это обусловлено более высокой электронной плотностью на С(5)-углеродном атоме. Только 10% ОН-радикалов присоединяются к С(6) в случае цитозина, 20% — урацила и 35% — тимина. В отщеплении атома водорода от метильной группы тимина участвуют меньше 9% ОН-радикалов (табл.2).

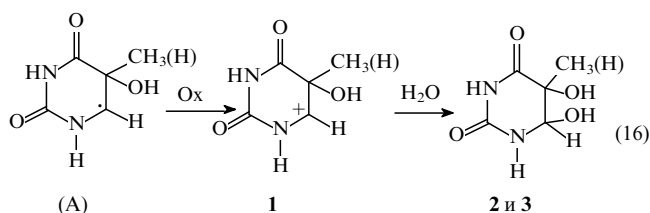


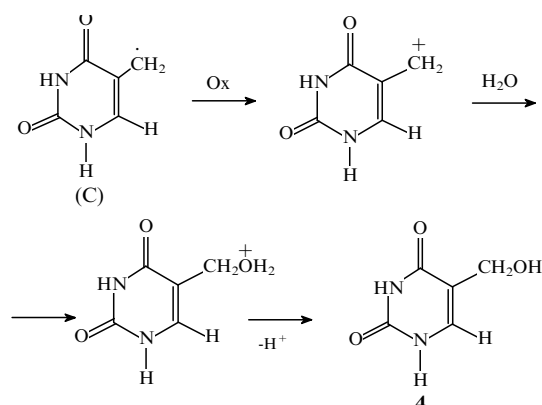
Таблица 2 Выход и окислительно-восстановительные свойства свободных радикалов пиримидинов, образующихся при взаимодействии с гидроксильными радикалами⁶⁷⁻⁶⁹

Гетероцикл	Радикал	Окислительно-восстановительные свойства	Выход, %/[ОН]	
			импульсный радиолиз	анализ продуктов
Тимин	(А)	Восстановитель	56	57
	(В)	Окислитель	35	—
	(С)	Слабый восстановитель	9	—
Урацил	(А)	Восстановитель	80	77
	(В)	Окислитель	20	—
Цитозин	(А)	Восстановитель	87	—
	(В)	Окислитель	10	—

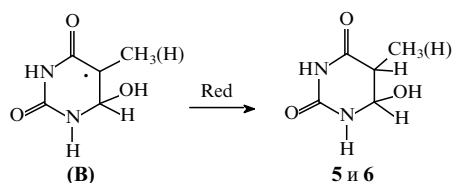
При окислении радикалов типа (A) тимина или урацила образуется карбокатион **1**, быстрый сольволиз которого приводит к количественному формированию гликолей по реакции (16): *цис*- или *транс*-форме 5,6-дигидрокси-5,6-дигидротимина **2** или 5,6-дигидрокси-5,6-дигидроурацила **3**.

Равенство выходов радикалов типа (A), оцененных методом импульсного радиолиза, и соответствующих гликолей тимина или цитозина, выделенных хроматографически (табл.2), позволило сделать вывод, что гликоли пиримидинов формируются исключительно по реакции (16) окисления радикалов типа (A).⁶⁸

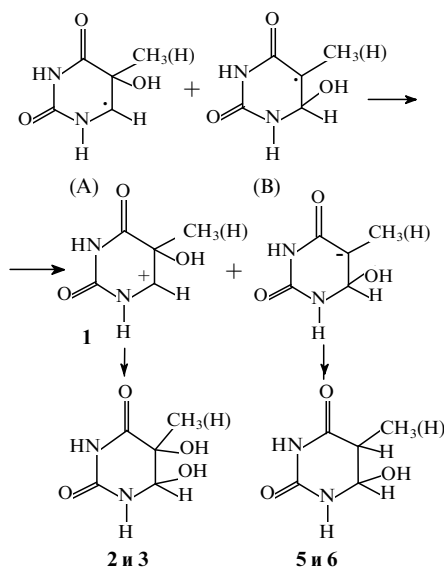
Окисление радикала тимина типа (C) приводит^{71,72} к образованию 5-гидроксиметилурацила **4**.



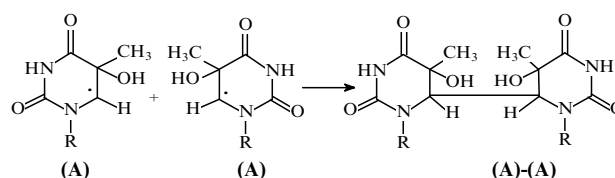
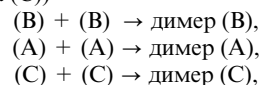
Восстановление радикалов тимина или урацила типа (B) приводит к образованию 6-гидрокси-5,6-дигидротимина **5** или 6-гидрокси-5,6-дигидроурацила **6** соответственно.



Поскольку окислительно-восстановительные свойства радикалов различаются, то в отсутствие экзогенных окислителей или восстановителей радикал типа (A) может окисляться радикалом типа (B) до карбокатиона с последующим образованием гликолей **2** или **3** и 6-гидрокси-производных **5** или **6**.



В этих условиях выход гликолей значительно ниже и составляет одну треть от выхода радикала типа (B), который расходуется также в реакции образования димеров. Реакция димеризации характерна и для других типов радикалов (типа (A) и типа (C))⁷³



Радикалы цитозина ведут себя аналогичным образом.⁶⁸ В ходе дальнейших превращений радикалов цитозина образуются *цис*- и *транс*-гликоли цитозина **7**, димеры цитозина (C)-(C), 5-гидроксицитозин **8**, и в меньшей степени 6-гидроксицитозин **9**. Кроме того, наблюдается дезаминирование цитозина, в результате чего образуются урацил и гликоли урацила **3**.

Таким образом, основными продуктами окисления пиримидинов являются гликоли, гидроксидигидропроизводные и димеры, а при окислении тимина также 5-гидроксиметилурацил. Образование этих продуктов при γ -радиолизе дезаэрированных растворов пиримидинов было зарегистрировано в работах разных авторов, хотя и с некоторыми различиями в оценке их количества (табл.3–5).^{74–80} Кроме этих продуктов при радиолизе пиримидинов в дезаэрированных растворах

Таблица 3 Продукты γ -радиолиза тимина в N_2O -насыщенных водных растворах

Продукт	G^{79}	G^{25}
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидротимин	1.45	—
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидротимин	0.81	0.32
5-Гидрокси-5,6-дигидротимин	—	0.08
6-Гидрокси-5,6-дигидротимин	0.13	0.10
5-Гидроксиметилурацил	0.22	0.27
5-Гидрокси-5-метилбарбитуровая кислота	0.11	—
N ¹ -Формил-N ² -пирувилмочевина	0.12	0.14
Мочевина	0.19	—
Димеры	0.26	—
Деградация тимина	3.9	2.71

(особенно при высоких дозах) образуются различные производные мочевины: N¹-формил-N²-пирувилмочевина **10**, N-формилмочевина **11** и мочевина **12**. Их формирование можно объяснить дальнейшей окислительной деградацией гликолей.⁷⁸

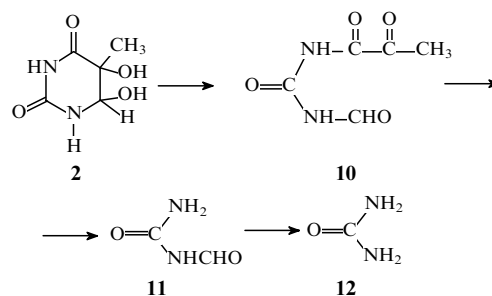


Таблица 4 Продукты γ -радиолиза урацила в N_2O -насыщенных водных растворах

Продукт	G^{75}		G^{76}		
	pH 5	pH 8.1	pH 4	pH 6	pH 8
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.2	0.4	0.32	0.30	0.18
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.5	0.4			
6-Гидрокси-5,6-дигидроурацил	0.5	0.3	--	--	--
Изобарбитуровая кислота	0.1	0.1	0.44	0.29	0.18
N ¹ -Формилмочевина	--	--	0.12	0.52	0.16
Димеры	3.1	0.7	3.30	4.38	1.60
Деградация урацила	4.4	1.9	4.25	5.51	2.11

Таблица 5 Продукты γ -радиолиза цитозина в N_2O -насыщенных водных растворах

Продукт	G
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроцитозин	0.05
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроцитозин	
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.15
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	
6-Гидроксицитозин	0.07
5-Гидроксицитозин	1.4
5,6-Дигидроксицитозин	0.2
Димеры	3.2
Урацил	0.02
Деградация цитозина	5.6

Скорости взаимодействия различных пероксирадикалов, приводящих к образованию тетроксидов, сильно различаются. Константы скорости взаимодействия некоторых пероксирадикалов близки к диффузионно-контролируемым, в то время как другие, особенно третичные пероксирадикалы, могут иметь константы на несколько порядков меньше.³³ Обычно образуется больше чем один тип пероксирадикалов, поэтому третичные пероксирадикалы, которые друг с другом взаимодействуют очень медленно, будут участвовать в реакциях с первичными или вторичными пероксирадикалами. Подобная ситуация характерна и для супероксидных радикалов. Из-за сравнительно низкой скорости диспропорционирования они, вероятно, взаимодействуют с другими присутствующими пероксирадикалами (26).

Схема 1

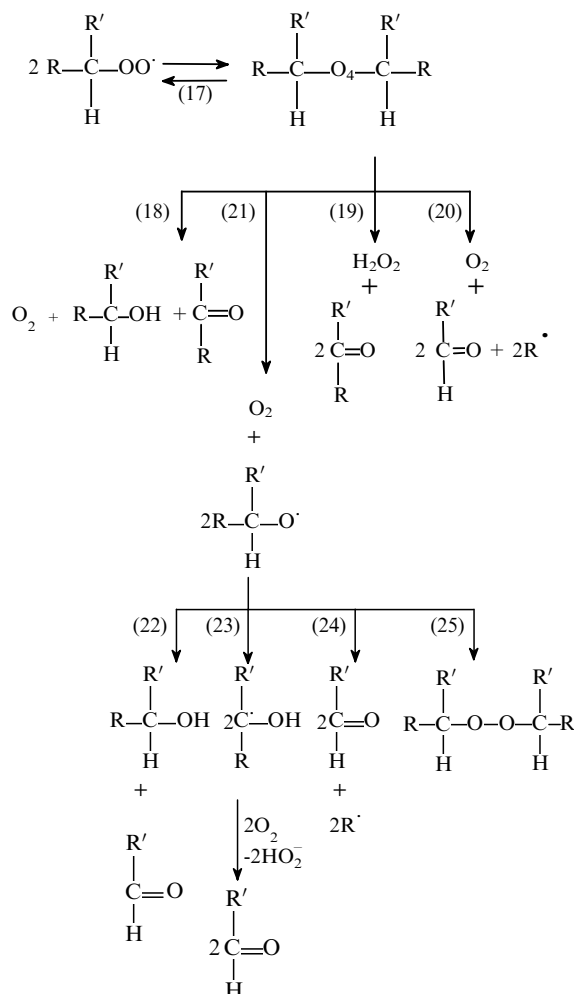
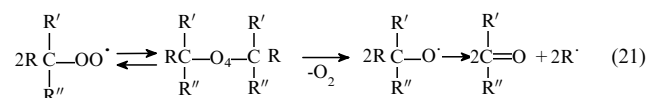
2. Аэробное окисление пиримидиновых гетероциклов

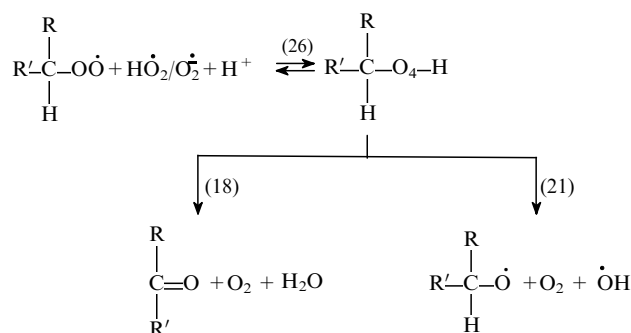
В аэробных условиях радикалы типа (A), (B) и (C) присоединяют кислород с диффузионно-контролируемой константой скорости ($k \approx 2 \cdot 10^9 M^{-1} s^{-1}$), образуя соответствующие пероксирадикалы, разложение которых приводит к образованию стабильных продуктов (17).^{25,26}

Проведенные в последние годы исследования на простых модельных соединениях позволили сформулировать общие принципы разложения органических пероксирадикалов.^{25,26} Обычно оно происходит по бимолекулярному механизму с образованием короткоживущего интермедиата – тетроксидов, который при низких температурах может редиссоциировать на два пероксирадикала, а при комнатной температуре быстро разлагается до стабильных продуктов. Число реакций, по которым разлагается тетроксид, невелико. Выделяют четыре основных процесса:

- 1) формирование молекулы спирта, карбонильного соединения и молекулы кислорода (18) – согласованный механизм Рассела;
- 2) формирование двух молекул карбонильного соединения и молекулы H_2O_2 (19);
- 3) разрыв на две молекулы карбонильного соединения с углеродом, имеющим более низкую степень замещения, одну молекулу кислорода и два алкильных радикала, вновь присоединяющих O_2 с образованием пероксирадикалов (20);
- 4) продукты всех этих реакций могут быть получены и по свободнорадикальному пути через образование алкоксирадикалов (21) (схема 1).

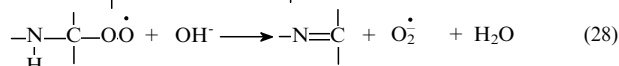
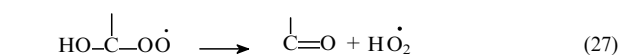
Третичные пероксирадикалы не подвергаются согласованному разложению по реакциям типа (18)–(20), но распадаются по реакции (21), образуя O_2 и третичные алкоксирадикалы, которые быстро подвергаются β -элиминированию:





Образуемый в результате гидротетроксид может разлагаться на алкоксирадикал, молекулярный кислород и ОН-радикал по реакции типа (21) или на карбонильное соединение, молекулярный кислород и воду по реакции типа (18).

В том случае, если в пероксирадикале в α -положении находятся группы ОН или NH, то возможно мономолекулярное разложение с образованием супероксидного радикала. При заместителе ОН выделение $\text{O}_2\cdot$ происходит спонтанно (27), при заместителе NH необходим основной катализ (28).

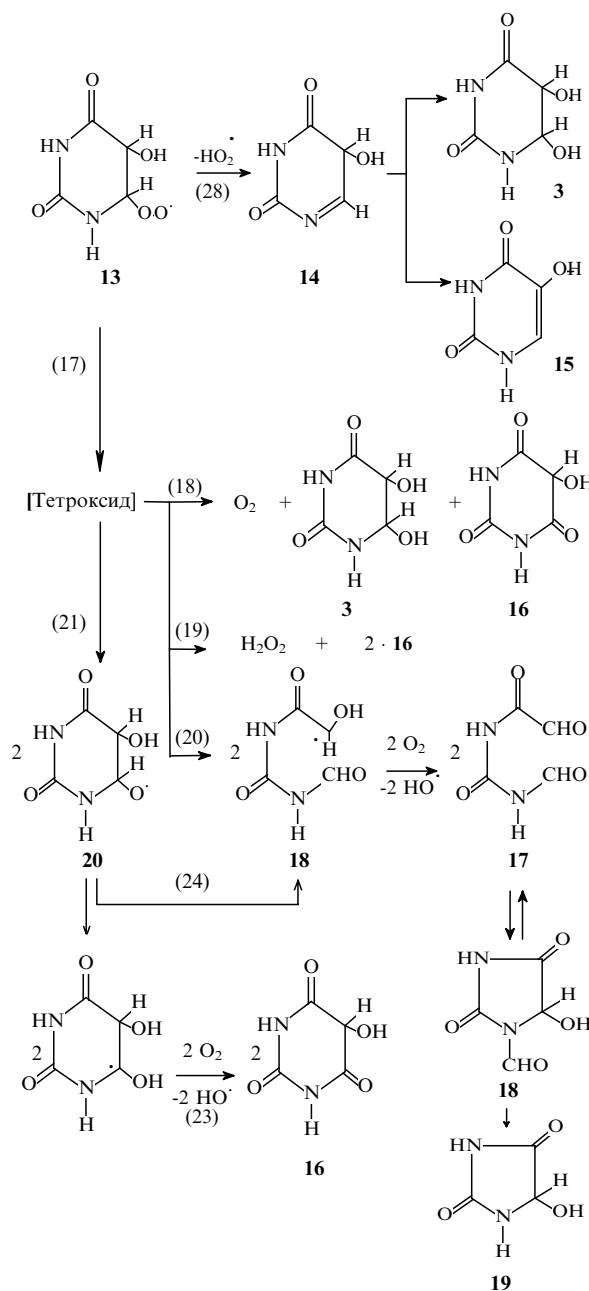


С помощью описанных механизмов можно предсказать пути формирования большинства продуктов, идентифицированных для γ -радиолиза урацила в $\text{N}_2\text{O}/\text{O}_2$ -насыщенном водном растворе (табл. 6).

Поскольку ОН-радикал присоединяется преимущественно к C(5)-положению урацила (80%), основным пероксирадикалом будет 6-перокси-5-гидрокси-5,6-дигидроурацил **13**. Мономолекулярная реакция (28) разложения пероксирадикала **13**, сопровождающаяся выделением O_2 и требующая катализа ионами OH^- , приводит к образованию 5-гидроксиизоурацила **14**, который может при взаимодействии с H_2O давать *цис*- или *транс*-гликоли **3**, а при pH 7 перестраиваться в изобарбитуровую кислоту **15**. Для бимолекулярной реакции (17) разложения пероксирадикала **13**, в соответствии со сказанным выше, возможны четыре механизма. Первый (18) приводит к образованию *цис*- или *транс*-гликолей **3** и диалуровой кислоты **16** и сопровождается выделением O_2 . По второму пути (19) получаются две молекулы диалуровой кислоты **16** и H_2O_2 . В третьем случае

(20) происходит разрыв связи C(5)–C(6), получающийся радикал вновь присоединяет молекулу O_2 , и после выделения

Схема 2

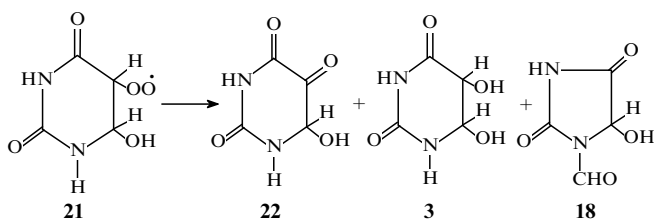
Таблица 6 Продукты γ -радиолиза урацила в $\text{N}_2\text{O}/\text{O}_2$ -насыщенных водных растворах

Продукт	G^{82}		G^{81}	
	pH 6.0	pH 3.0	pH 6.5	pH 10
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.42	0.6	0.9	1.4
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.62	0.5	1.1	1.0
Изобарбитуровая кислота	0.10	0	0.2	1.2
N ¹ -Формил-N ² -гликоксилмочевина	0.72	—	—	—
N ¹ -Формил-5-гидроксициантоин	—	1.6	1.4	0.2
5-Гидроксициантоин	0.18	0.4	0.4	0.3
Диалуровая кислота	—	0.9	0.4	0.2
Изодиалуровая кислота	—	0.1	0.2	0.1
Аллоксан	0.06	—	—	—
N ¹ -Формилмочевина	0.27	—	—	—
Мочевина	0.02	—	—	—
Щавелевая кислота и уреиды	0.13	—	—	—
Дегградация урацила	2.49	4.9	5.3	5.2

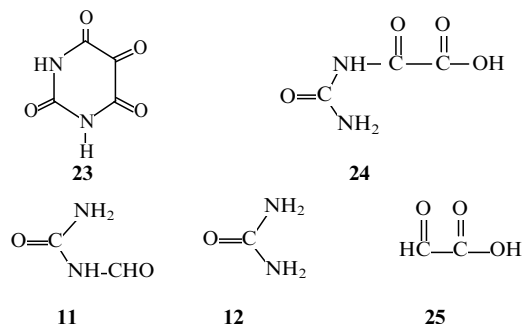
$\text{HO}_2^\cdot$ образуется N^1 -формил- N^2 -глиоксимочевина **17** или ее циклический изомер N^1 -формил-5-гидроксигидантоин **18**, который легко теряет формальдегидную группу и превращается в 5-гидроксигидантоин **19**. Четвертый путь (21) приводит к образованию двух алкоксирадикалов **20**, которые далее превращаются в диалуровую кислоту **16** по пути (23) или N^1 -формил-5-гидроксигидантоин **18** по пути (24) (схема 2).

Мономолекулярная реакция (28) и бимолекулярная реакция (17) являются конкурентными. Как показано в табл.6, состав продуктов меняется в зависимости от pH среды и мощности излучения.⁸¹ При высоких pH вследствие основного катализа мономолекулярная реакция является более предпочтительной и в результате изобарбитуровая кислота **15** становится основным продуктом наряду с гликолями **3**, а количество N^1 -формил-5-гидроксигидантоина **18** и диалуровой кислоты **16**, основных продуктов бимолекулярной реакции, значительно уменьшается. При кислых pH распределение продуктов резко меняется на противоположное: N^1 -формил-5-гидроксигидантоин и диалуровая кислота становятся основными продуктами, а изобарбитуровая кислота вообще не обнаруживается.

Очевидно, что для минорного пероксирадикала 5-перокси-6-гидрокси-5,6-дигидроурацила **21** характерна только бимолекулярная реакция разложения. Основными продуктами в этом случае являются гликоли **3** и N^1 -формил-5-гидроксигидантоин **18** как и для C(6)-пероксирадикала, а вместо диалуровой образуется изодиалуровая кислота **22** (табл.6).

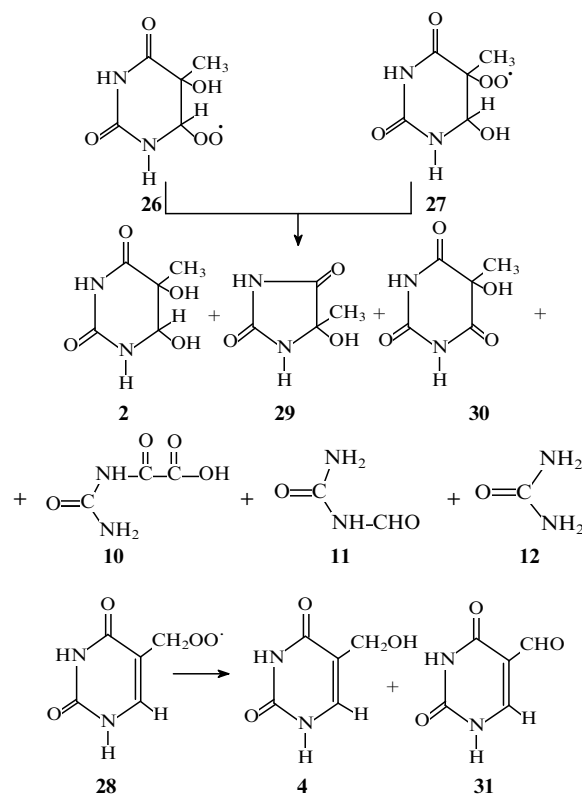


При высоких мощностях и дозах облучения⁸² кроме перечисленных продуктов обнаруживаются также аллоксан **23**, N -формилмочевина **11**, мочевина **12**, щавелевая кислота и ее уреид **24** и глиоксальная кислота **25**, которые являются продуктами более глубокого окисления урацила и при высоких дозах облучения становятся основными.



В аэрированных водных растворах тимина радикалы типа (A), (B) и (C), присоединяя O_2 , образуют соответственно три типа пероксирадикалов: 6-перокси-5-гидрокси-5,6-дигидротимин **26** и 5-перокси-6-гидрокси-5,6-дигидротимин **27**, аналогично пероксирадикалам урацила **13** и **21**, а также 5-пероксиметилурацил **28**. В целом механизмы разложения пероксирадикалов **26** и **27** не отличаются от механизмов, описанных выше для пероксирадикалов урацила. В табл.7 представлены данные по выходу различных продуктов анаэробного γ -радиолиза тимина.^{25, 79, 83-85} Как и при γ -радиолизе урацила, при окислении тимина образуются *цис*- и

транс-гликоли тимина **2**, 5-гидрокси-5-метилгидантоин **29**, 5-гидрокси-5-метилбарбитуровая кислота **30**, N^1 -формил- N^2 -пирувилмочевина **10**, N -формилмочевина **11** и мочевина **12**. Разложение 5-пероксиметилурацила **28** приводит к двум основным продуктам: 5-гидроксиметилурацилу **4** и 5-формилурацилу **31**.



Кроме того, были выделены и охарактеризованы гидропероксиды тимина, получаемые при восстановлении пероксирадикалов (табл.7). Время полупревращения гидропероксидов тимина в водных растворах может достигать^{25, 26} 5 дн. при 37°C. Выделены четыре возможные изомерные формы: *транс*- и *цис*-формы 5(6)-перокси-6(5)-гидрокси-5,6-дигидротимина, производные радикалов типа

Таблица 7 Продукты γ -радиолиза тимина в $\text{N}_2\text{O}/\text{O}_2$ -насыщенных водных растворах⁸⁶

Продукт	G
<i>цис</i> -6-Гидроперокси-5-гидрокси-5,6-дигидротимин	0.3
<i>транс</i> -6-Гидроперокси-5-гидрокси-5,6-дигидротимин	0.7
<i>цис</i> -5-Гидроперокси-6-гидрокси-5,6-дигидротимин	0.08
<i>транс</i> -5-Гидроперокси-6-гидрокси-5,6-дигидротимин	0.17
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидротимин	0.12
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидротимин	0.12
<i>цис</i> -6-Гидроперокси-5,6-дигидротимин	0.03
<i>транс</i> -6-Гидроперокси-5,6-дигидротимин	0.03
5-Гидроперокси-5,6-дигидротимин	0.06
5-Гидропероксиметилурацил	0.05
5-Гидрокси-5,6-дигидротимин	0.02
6-Гидрокси-5,6-дигидротимин	0.01
5-Гидроксиметилурацил	0.02
5-Гидрокси-5-метилгидантоин	0.15
5-Гидрокси-5-метилбарбитуровая кислота	—
N^1 -Формил- N^2 -пирувилмочевина	0.5
N^1 -Формилмочевина	0.07
Мочевина	0.08
Дегградация тимина	2.6

Таблица 8 Продукты γ -радиолиза цитозина в N_2O/O_2 -насыщенных водных растворах^{87,88}

Продукт	G
<i>цис</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.03
<i>транс</i> -5,6-Дигидрокси-5,6-дигидроурацил	0.10
5-Гидроксигидантоин	0.10
4-Амино-N ¹ -формил-5-гидрокси-2-оксо- Δ^3 -имидазолин	0.20
<i>транс</i> -1-Карбамоилимидазолидон-4,5-диол	0.61
N ¹ -Формилмочевина	0.06
Парабановая кислота	0.03
Биурет	0.06
Щавелевая кислота и уреиды	0.21
Дегградация цитозина	2.49

(А) и (В), причем преимущественно образуются *транс*-изомеры. Также выделен гидропероксиметилурацил – производное радикала (С).

Оценка продуктов γ -радиолиза цитозина в азированных водных растворах показала, что 40% выделяемых продуктов те же, что и при радиолизе урацила (табл.8).^{87,88} По-видимому, это связано с тем, что на одной из первых стадий

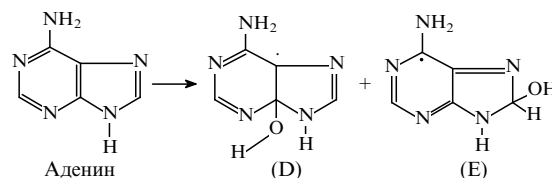
радиолиза образующийся свободнорадикальный продукт дегидратации цитозина подвергается дезаминированию. Получаемые в результате свободнорадикальные продукты урацила превращаются по механизмам, описанным для них выше. Механизм дезаминирования еще не установлен окончательно.

При разложении пероксирадикалов цитозина **32** и **33**, не подвергшихся дезаминированию, в качестве основных продуктов образуются *транс*-1-карбамоилимидазолидон-4,5-диол **35** и 4-амино-N¹-формил-5-гидрокси-2-оксо- Δ^3 -имидазолин **36**. Соединение **36**, по-видимому, получается по механизму, аналогичному образованию 5-гидроксигидантоина, и при дезаминировании превращается далее в парабановую кислоту **37**. Формирование соединения **35** можно объяснить разрывом связи C(4)–C(5) с образованием **34**, который в дальнейшем либо циклизуется с образованием **35**, либо подвергается дальнейшей деструкции до биурета **38**. Интересно отметить, что при радиолизе цитозина в присутствии O_2 не выделяются гликоли (табл.8). Однако детектируется 5-гидроксицитозин, который может быть продуктом дегидрирования гликолей (схема 3).

3. Окисление пуриновых гетероциклов

Успехи в изучении окисления пуринов ОН-радикалами при γ -радиолизе не столь значительны. Это связано с тем, что исследователи, использующие методы изучения реакций ОН-радикалов, хорошо зарекомендовавшие себя в работе с пиримидинами, при применении их к пуриновым гетероциклам сталкиваются с определенными трудностями. Методом ЭПР в сочетании со спиновыми ловушками не удалось однозначно идентифицировать радикалы пуринов, образуемые при взаимодействии с ОН-радикалами.⁸⁹ Эксперименты по импульсному радиолизу в сочетании с исследованием окислительно-восстановительных свойств полученных радикалов дают больше информации, но их интерпретация также затруднена, так как образующиеся при взаимодействии свободных гидроксильных с пуриновыми гетероциклами радикалы претерпевают быстрые внутримолекулярные перестройки, например, раскрытие цикла, дегидратация или дегидрирование с образованием вторичных радикалов.

В работах⁹⁰⁻⁹³ с использованием методов импульсного радиолиза установлено, что ОН-радикал при взаимодействии с аденином присоединяется преимущественно по двойной связи C(4)=C(5) к C(4)-углеродному атому и в меньшей степени по двойной связи N(7)=C(8) к C(8)-углеродному атому, образуя соответственно радикалы типа (D) и типа (E).



Радикал типа (D) – слабый окислитель, но в результате дегидратации превращается в радикал типа (F), являющийся сильным окислителем. Количество радикала (F), определенное по реакции с восстановителем, составило 81% для свободного аденина (табл.9). Восстановление радикала (F) приводит к образованию исходного аденина, что объясняет зарегистрированный низкий уровень его деструкции (30% по отношению к количеству ОН-радикалов).⁹³

Радикал типа (E) является восстановителем. Его выход, определенный по реакции с окислителем, метилвиологеном, составляет $15 \pm 5\%$ (табл.9). Окисление радикала (E) приводит к образованию 8-гидроксиаденина **39**. При проведении γ -радиолиза в присутствии окислителя – $Fe(CN)_6^{3-}$ – выход

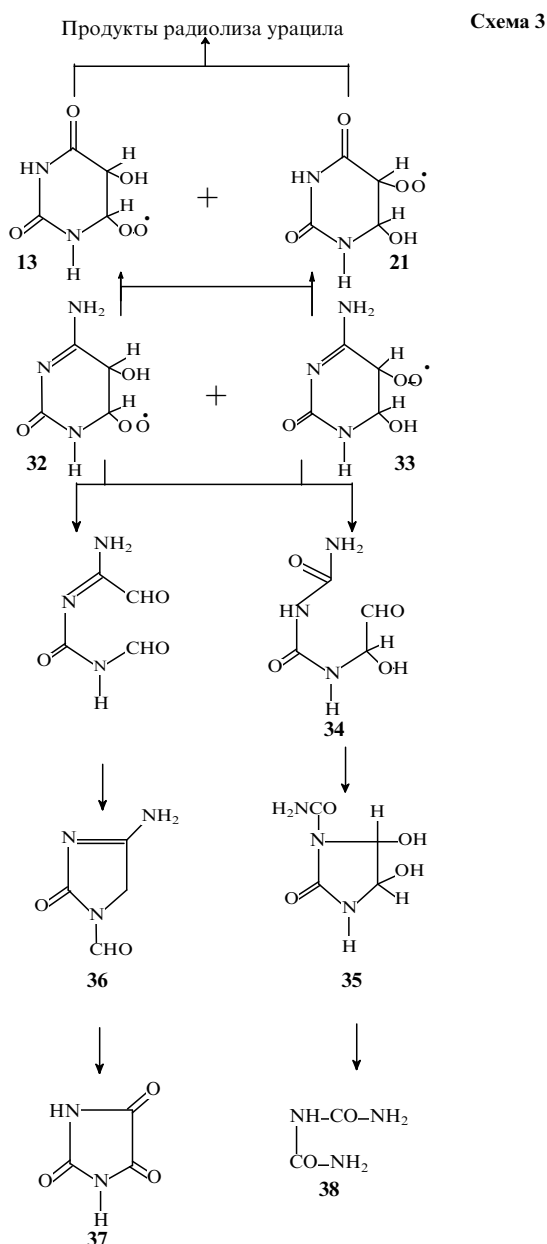
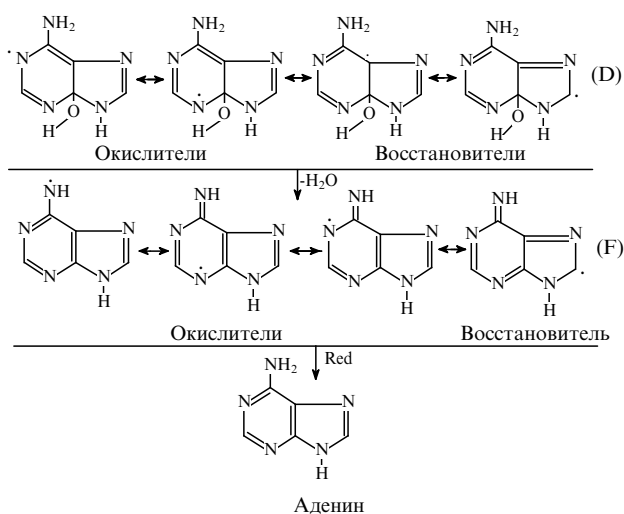


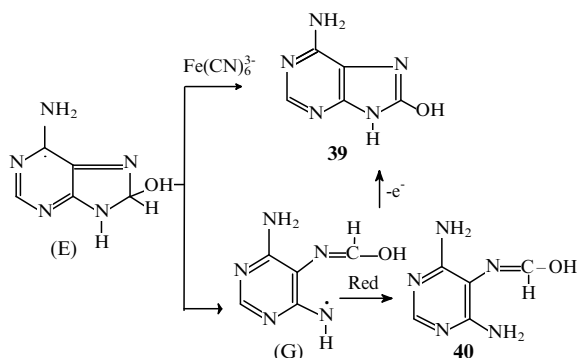
Таблица 9 Выход и окислительно-восстановительные свойства свободных радикалов пуринов, образующихся по реакции взаимодействия с гидроксильными радикалами

Гетероцикл	Радикал	Окислительно-восстановительные свойства	Выход, %/[ОН]	Метод оценки
Аденин	(D)	Окислитель	81	По реакции с TMPD
	(E)	Восстановитель	15	По реакции с MV
	(E)	Восстановитель	18	Выход 8-гидроксиаденина
Гуанозин	(D)	Окислитель	50	По реакции с TMPD
	(E)	Восстановитель	25	Выход 8-гидроксигуанозина
	(H)	Восстановитель	25	Разность между общим выходом радикалов по реакции с MV и выходом радикала (E)

Обозначения: MV – метилвиологен,
TMPD – N,N,N',N'-тетраметилфенилендиамин.



8-гидроксиаденина составил 18%, что согласуется с выходом радикала (E). Однако для радикала (E) характерна также внутримолекулярная реакция раскрытия имидазольного цикла с образованием радикала (G), который является окислителем. Восстановление радикала (G) приводит к образованию 5-формамид-4,6-диаминопиримидина **40**.

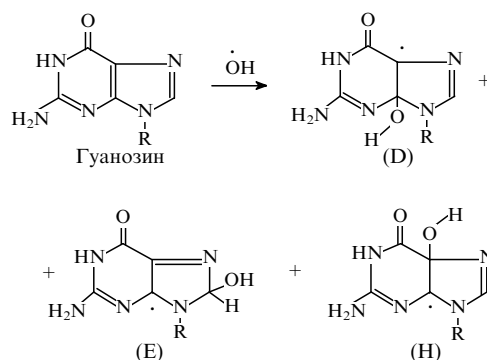


В отсутствие экзогенных окислителей выход 8-гидроксиаденина **39** превышает выход производного **40** в 3 раза. Это подтверждает, что окисление является главным путем превращения радикала (E), который в этом случае может окисляться радикалом (F) с образованием 8-гидроксиаденина и аденина. Соединение **40** образуется, по-видимому, только в результате диспропорционирования радикала (G).

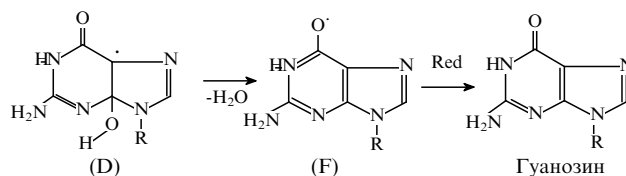
Присоединение ОН-радикала по С(5)-углеродному атому аденина зарегистрировано только в случае N(6)-метиладенина и не превышает 10-15%. Пути дальнейшего превращения

образующегося радикала не охарактеризованы.

В результате взаимодействия ОН-радикалов с гуанозин-ом или его 9-замещенными аналогами зарегистрировано образование приблизительно в одинаковых количествах радикалов двух типов, один из которых обладает окислительными, а другой – восстановительными свойствами (табл.9).⁹² Как и в случае адениновых производных, ОН-радикалы присоединяются по С(4)-, С(8)-, а также со значительным выходом по С(5)-углеродным атомам гуанозина, образуя радикалы типа (D), (E) и (H) соответственно.

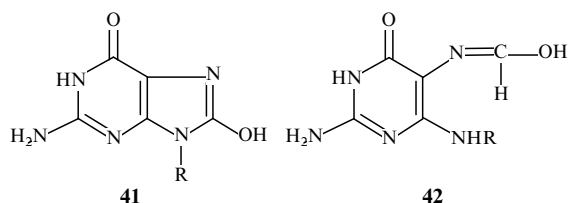


Радикал гуанозина типа (D), как и адениновый радикал (D), в результате реакции дегидратации быстро превращается в радикал типа (F), являющийся сильным окислителем. Выход радикала (D) был определен по реакции с сильным восстановителем и составил 50%. Восстановление радикала (F) приводит к образованию исходного гуанозина,⁹³ снижая тем самым общий выход продуктов деградации гуанозина.



Радикалы (E) и (H) обладают восстановительными свойствами. Для гуанозинового радикала типа (E) характерны те же пути превращения, что и для аденинового радикала (E). Окисление (E) или восстановление радикального продукта с раскрытым имидазольным циклом (F) приводит к образованию 8-гидроксигуанозина **41** и 6-N-(2'-дезоксид-эритро-пентофуранозил)-2,6-диамино-5-формамидо-4-гидроксопиримидина **42**, соответственно. Количество радикала (E), оцененное по выходу 8-гидроксигуанозина, составило 25% (табл.9). Оставшиеся 25% радикальных продуктов

гуанозина приписываются радикалу типа (H), пути дальнейшего превращения которого еще не установлены.



Взаимодействие пуриновых радикалов с молекулярным кислородом изучено очень плохо. Скорости этих реакций меньше, чем для пиримидиновых радикалов. Кроме того, радикал типа (D) быстро превращается в радикал типа (F), не взаимодействующий с кислородом. Превращения пероксидов пуринов не охарактеризованы.

8-Гидроксипроизводные **39**, **41** и соединения с раскрытым имидазольным циклом **40**, **42** были зарегистрированы в качестве основных продуктов окисления пуринов в составе нуклеиновых кислот в различных окислительных системах (табл. 10, 11).^{26, 94-98} Кроме того, при окислении динуклеотида d(CG) комплексом Cu-1,10-фенантролина было зарегистрировано образование N-(2'-дезоксид-эритро-пентофуранозил)-формамида, который является, по-видимому, продуктом более глубокого окисления гуанозина.⁹⁹

Большинство продуктов окисления гетероциклов, охарактеризованные на модельных соединениях, были зарегистрированы и при окислении ДНК как *in vitro*, так и *in vivo* в различных окислительных системах, а именно при γ -радиолизе,^{100, 101} в системах пероксид водорода-Fe-EDTA³¹ или супероксидный радикал-Fe-EDTA,^{29, 30} а также при окислении Cu-1,10-фенантролином или Fe-блеомицином.^{60, 102}

Таблица 10 Продукты γ -радиолиза аденина в N₂O-насыщенных водных растворах⁹⁷

Продукт	G
4,6-Диамино-5-формамидопиримидин	0.2
8-Гидроксиаденин	0.35
6-Амино-8-гидрокси-7,8-дигидропурин	0.1
Деградация аденина	1.0

Таблица 11 Продукты γ -радиолиза гуанозина в N₂O-насыщенных водных растворах⁹⁶

Продукт	G
6-N-(2'-Дезокси- α -D-эритро-пентофуранозил)-2,6-диамино-5-формамидо-4-оксопиримидин	0.09
6-N-(2'-Дезокси- α -L-эритро-пентофуранозил)-2,6-диамино-5-формамидо-4-оксопиримидин	0.25
5',8-Цикло-2',5'-дидезоксигуанозин	0.06
8-Гидроксигуанозин	0.24
Гуанин	0.38
9-(2'-Дезокси- α -D-эритро-пентофуранозил)гуанин	0.03
9-(2'-Дезокси- β -D-эритро-пентофуранозил)гуанин	0.02
9-(2'-Дезокси- α -D-эритро-пентофуранозил)гуанин	0.02
9-(2'-Дезокси- α -L-трео-пентофуранозил)гуанин	0.03
9-(2'-Дезокси- β -D-эритро-пенто-1,5-диальдо-1,4-фуранозил)-гуанин	0.08

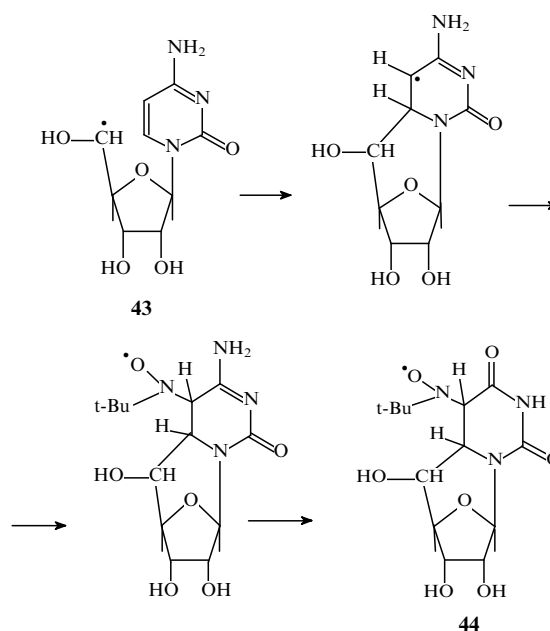
IV. Окисление углеводных фрагментов в составе нуклеиновых кислот

1. Общие закономерности окисления углеводных фрагментов нуклеиновых кислот

Скорость взаимодействия гидроксильных радикалов с рибозой и 2'-дезоксирибозой в несколько раз меньше, чем для гетероциклов (см. табл. 1). При этом происходит отщепление атома H от всех пяти углеродных атомов остатка пентозы с близкой вероятностью: приблизительно по 25% от C(1')- и C(2')-углеродных атомов, по 20% от C(3') и C(4') и только 10% от C(5').¹⁰³ Это приводит к образованию большого числа продуктов модификации, что затрудняет установление путей превращения определенных первичных радикалов.

Использование спиновых ловушек позволило зарегистрировать некоторые из образующихся свободных радикалов рибозы и дезоксирибозы в нуклеиновых кислотах и их модельных соединениях.^{62, 63, 65} Стабильные продукты взаимодействия радикалов C(4'), C(5') и C(1') с 2-метил-2-нитропропаном были выделены и охарактеризованы при γ -радиолизе водных растворов производных урицила (уридин-3'-монофосфата и полиуридилевой кислоты) и тимина (тимидин-5'-монофосфата).

Для производных цитозина (цитидина, дезоксидитидина, цитидин-5'-монофосфата, цитидин-3'-монофосфата и дезоксидитидин-5'-монофосфата) удалось зарегистрировать по реакции с 2-метил-2-нитропропаном только C(4')-радикал **43** и радикальный продукт дальнейшего превращения C(5')-радикала **44**:



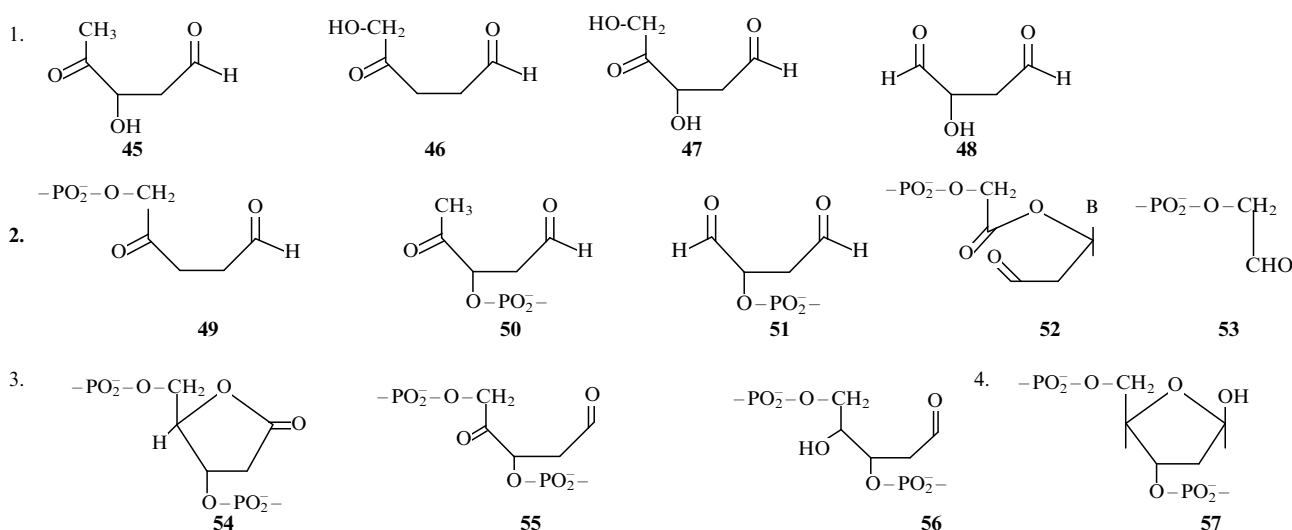
Для пуриновых нуклеозидов (дезоксиаденозина, аденозина, гуанозина, дезоксигуанозина, инозина) и их гомополимеров, poly(A) и poly(G), был идентифицирован только продукт C(4')-радикала.⁵⁸

Все установленные конечные продукты модификации пентозы (табл. 12), образующиеся при γ -радиолизе водных растворов ДНК, условно разделяют на 4 типа:^{25, 26, 61}

1) продукты окисления пентозы **45-48**, полученные при разрыве обеих фосфоэфирных связей и выщеплении немодифицированных гетероциклов;

Таблица 12 Продукты модификации углеводородного остатка при γ -радиолизе водных растворов ДНК

Продукт	Радикал-предшественник	Без O ₂	C O ₂	Разрывы цепи	Щелочеллабильные сайты
2'-Дезоксириболоктон	C(1')	+	-	-	+
Эритроза, связанная с ДНК	C(2')	-	+	-	+
2,5-Дидезоксипентоз-4-улоза	C(4')	+	-	+	-
2,5-Дидезоксипентоз-4-улоза, связанная с ДНК	C(4')	+	-	+	-
2,3-Дидезоксипентоз-4-улоза	C(4')	+	-	+	-
2,3-Дидезоксипентоз-4-улоза, связанная с ДНК	C(4')	+	-	+	-
2-Дезоксипентоз-4-улоза	C(4')	+	+	-	+
2-Дезоксипентоз-4-улоза, связанная с ДНК	C(4')	+	+	-	+
Гликолевая кислота, связанная с ДНК	C(4')	-	+	+	-
Соединение, выщепляющее малоновый диальдегид	C(4')	-	+	+	-
2-Дезокситетродиаальдоза	C(5')	-	+	+	-
2-Дезокситетродиаальдоза, связанная с ДНК	C(5')	-	+	+	-
Апуриновые/апиримининовые сайты	Гетероцикл	+	+	-	+



2) модифицированные остатки пентоз, связанные только с одной концевой фосфатной группой, содержащие или не содержащие гетероциклы **49-53**;

3) продукты, в которых обе фосфатные связи сохранены, но выщеплено гетероциклическое основание и пентоза модифицирована **54-56**;

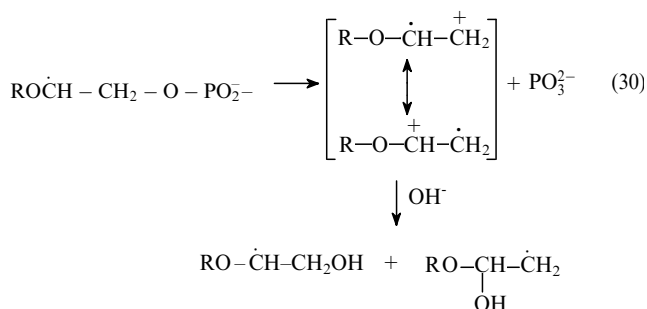
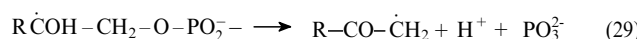
4) продукт с апуриновым/апиримининовым сайтом **57**, который образовался в результате модификации гетероцикла, приводящей к расщеплению гликозидной связи.

Образование продуктов типа (1) и (2) сопровождается разрывом сахарофосфатного остова ДНК и выделением интактных гетероциклов. Продукты типа (3) и (4) представляют собой так называемые щелочеллабильные сайты, дающие разрывы цепи ДНК после нагревания в щелочной среде. Их образование не всегда сопровождается одновременным выщеплением интактных гетероциклов, например, в случае продукта **52**.

Исследования механизмов окисления простейших аналогов ДНК позволили установить некоторые закономерности в превращениях свободных радикалов фосфорных эфиров сахаров, на основе которых были постулированы механизмы индуцированного ОН-радикалами окисления рибозы и дезоксирибозы в нуклеиновых кислотах до известных конечных продуктов. Ниже коротко перечислены основные закономерности (более подробно они изложены в обзорах):^{25, 26, 61}

1) α -спиртовые и α -алкоксиалкильные радикалы, содержащие в β -положении фосфатную группу, способны быстро

выщеплять фосфатную группу:



2) радикалы типа $RCHON-\dot{C}O$ быстро отщепляют молекулу CO:



3) окисление радикалов различными окислителями приводит к образованию карбокатионов:



4) в присутствии кислорода алкильные радикалы быстро

присоединяют молекулу кислорода, образуя пероксирадикалы:



5) распад пероксирадикалов происходит по моно- или бимолекулярным механизмам, которые описаны в предыдущем разделе.

Ряд важных сведений о механизме окисления углеводных фрагментов получен с использованием противоопухолевых антибиотиков (блеомицина, неокарциностатина) и металлокомплексов (Cu-1,10-фенантролина, Mn-порфирина), связывающихся с ДНК и селективно окисляющих пентозу по определенному положению (разделы 2, 4 и 5 данной главы).

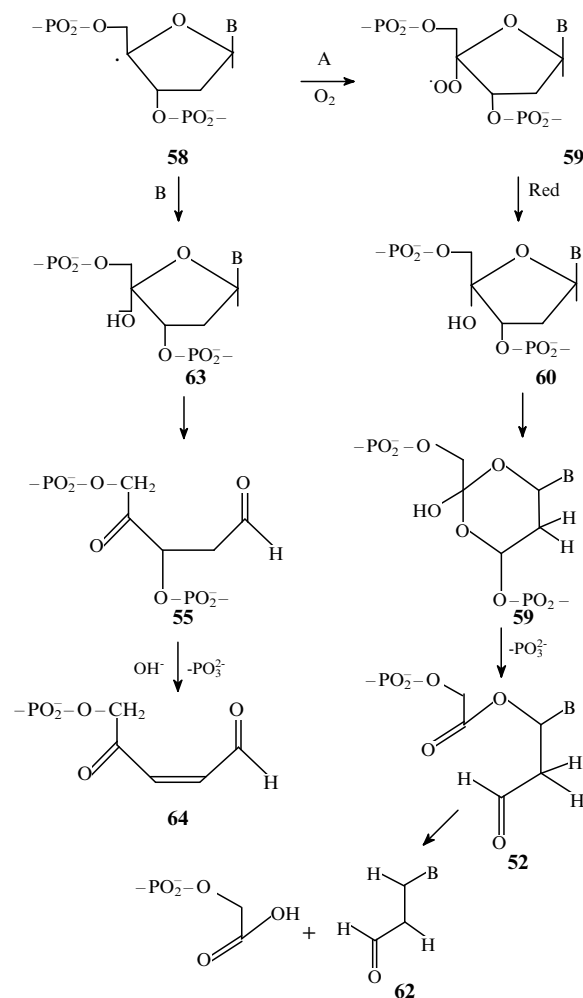
Наиболее детально исследовано окисление по C(4')-положению пентоз. Это обусловлено двумя причинами. Во-первых, окисление по C(4')-положению является основным путем деградации нуклеиновых кислот противоопухолевыми антибиотиками блеомициновой группы.⁷ Во-вторых, для некоторых гомополинуклеотидов, poly(U) и poly(dT), характерно преимущественное образование C(4')-радикала рибозы при γ -радиолизе в водных растворах за счет дополнительного отщепления атома H от C(4')-положения сахара свободным радикалом гетероцикла соседнего мономерного звена.¹⁰⁴ Ниже изложены известные пути окисления сахаров в составе нуклеиновых кислот по различным положениям рибозы или дезоксирибозы как свободными OH-радикалами, так и некоторыми антибиотиками и металлокомплексами.

2. Окисление по C(4')-положению дезоксирибозы в присутствии блеомицина

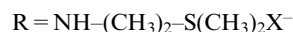
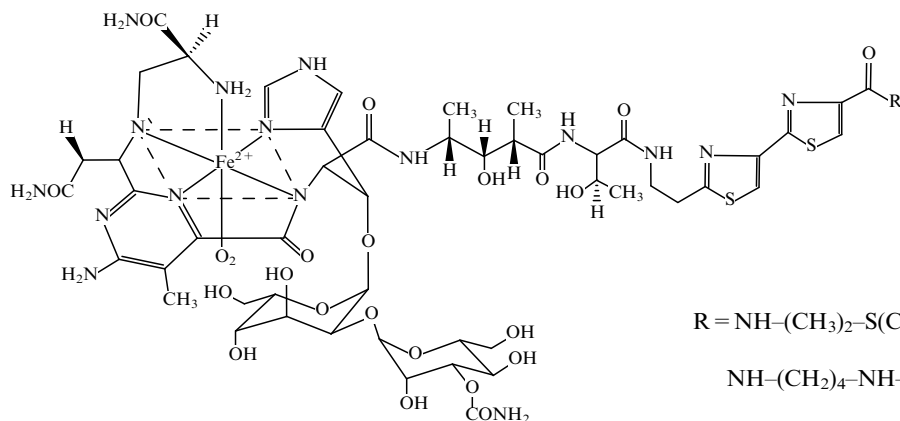
Блеомицины – группа гликопептидных противоопухолевых антибиотиков, вызывающих деградацию ДНК в присутствии ионов Fe^{2+} и молекулярного кислорода.^{7, 55, 105, 106}

В качестве окисляющей единицы выступает так называемый "активированный блеомицин", образующийся в результате двухэлектронного восстановления тройного комплекса $BIm \cdot Fe^{2+} \cdot O_2$, как отмечалось в гл. II нашего обзора, являющийся оксокомплексом железа. В результате деструкции ДНК активированным блеомицином регистрируется образование двух типов мономерных продуктов: *транс*-пропеналей гетероциклов (путь А) и свободных гетероциклов (путь В). Образование пропеналей требует участия еще одной молекулы кислорода помимо той, которая была использована для активации блеомицина. Этот процесс сопровождается расщеплением ДНК на два фрагмента, один из которых содержит 5'-концевой фосфат, а второй – 3'-концевой фосфогликолят. Выщепление гетероциклов не требует дополнительной молекулы кислорода и приводит к

образованию апириимидиновых/апуриновых сайтов при окисленном остатке дезоксирибозы, расщепление по которым происходит только в щелочных условиях. При нормальном давлении кислорода количество выделяемых свободных гетероциклов практически равно количеству пропеналей гетероциклов. При повышении давления кислорода предпочтительно протекает реакция А; в анаэробных условиях ($Fe(III)$ и H_2O_2) наблюдается исключительно путь В.^{7, 55, 105, 106}



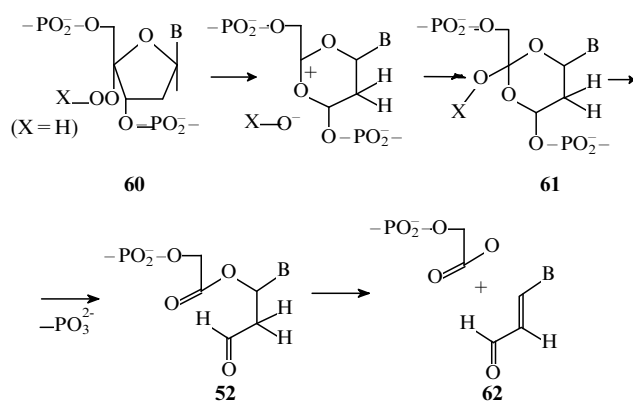
Эксперименты с различными ДНК, содержащими тритий в 4'-положении, показали, что выделение тритиевой воды коррелирует с выделением суммы обоих мономерных про-



дуктов, пропеналей и свободных гетероциклов.^{55, 107} Это свидетельствует о том, что для обоих путей первой стадией является отщепление атома водорода от 4'-углеродного атома дезоксирибозы. Значительный изотопный эффект при замене 4'-H на тритий или дейтерий (7-11 и 4-5 раз соответственно) позволяет сделать вывод, что в обеих реакциях отщепление атома H от C(4')-положения пентозы является стадией, лимитирующей скорость.

В аэробных условиях 4'-радикал **58** быстро взаимодействует с кислородом, образуя 4'-пероксирадикал **59**. Для прямого доказательства наличия этого процесса была проведена серия экспериментов¹⁰⁸ с использованием изотопов кислорода ^{16}O и ^{18}O . В том случае, когда $^{18}\text{O}_2$ включался в активированный блеомицин, а окисление ДНК проводилось непосредственно в присутствии $^{16}\text{O}_2$, никакого включения метки в продукты не регистрировалось. При обратной ситуации, когда в реакционной среде присутствовал $^{18}\text{O}_2$, наблюдалось включение метки в один из продуктов окисления – 3'-фосфогликолят. При этом в 3'-фосфогликолят включалось только один атом ^{18}O , в то время как другой атом кислорода этого продукта происходил от дезоксирибозы. Второй атом кислорода пероксидной группы, по-видимому, должен включаться в пропеналь гетероцикла. Однако доказать это до настоящего времени не удалось.

Последующие стадии, приводящие к разрыву C(3')–C(4')-связи, расщеплению сахарофосфатного остова и выделению пропеналей гетероциклов, еще нельзя считать окончательно установленными. По-видимому, далее 4'-пероксирадикал **59** принимает еще один электрон от присутствующего восстановителя и превращается в достаточно нестабильный 4'-пероксид **60**. Предполагается, что далее пероксид **60** подвергается перегруппировке Криге. В ходе этой перегруппировки атом C(3') мигрирует от атома C(4') на атом O пероксида с одновременным гетеролитическим разрывом O–O-связи. Активированный появлением карбонильной группы при C(3')-положении в интермедиате **52** углерод C(2') может депротонироваться, инициируя элиминацию через C(2')–C(1')-связь и выделение пропенала гетероцикла **62** и фосфогликолятного продукта. При таком механизме должны появляться метки в фосфогликолятном продукте, когда ДНК окисляется в присутствии $^{18}\text{O}_2$, что и регистрировалось в работе.¹⁰⁸



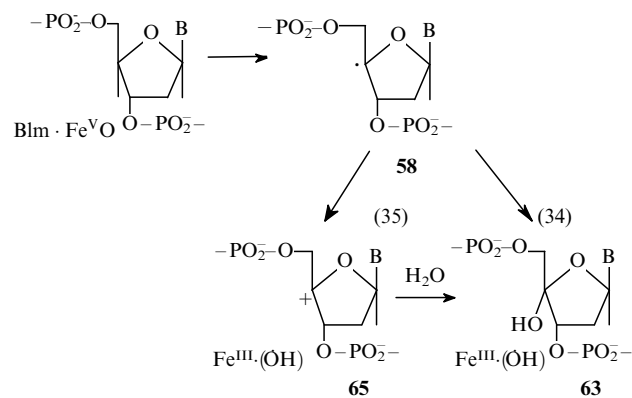
В подтверждение этой схемы в работе¹⁰⁹ с использованием 3'- ^{18}O -меченного poly(dA-dT) в качестве субстрата было показано, что получаемые при деградации блеомицином 5'-фосфатные продукты, содержат ^{18}O -метку в фосфатной группе. Это свидетельствует о протекании реакции по реакции с расщеплением C(3')–O(3')-связи.

Данные в пользу наличия предшественника пропеналей **52** получены в работе.¹¹⁰ Было зарегистрировано существование долгоживущего предшественника пропенала гетероцикла, который соосаждался с ДНК. Это позволило определить, что скорость выделения пропеналей на порядок

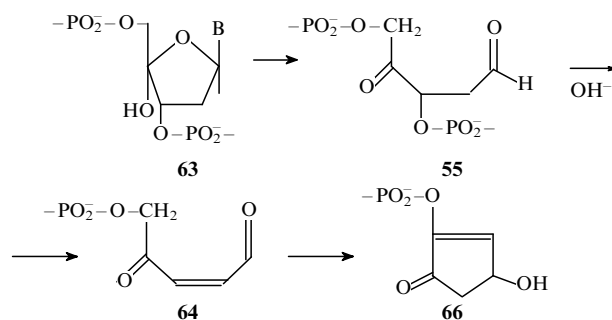
меньше скорости возникновения одноцепочечных разрывов: $t_{1/2} \approx 40$ мин и $t_{1/2} \approx 2,5 \div 5$ мин, соответственно.

Для более детального исследования разрыва связи C(2')–H использовали¹¹¹ избирательно меченные тритием ДНК: poly(dA-[2'-proS- ^3H]dU), poly(dA-[2'-proR- ^3H]dU). Показано, что имеет место строго стереоспецифичное отщепление 2'-proR-H через антиэлиминацию с образованием исключительно *транс*-пропеналей.

Как было отмечено, при низком содержании O_2 окисление ДНК идет по пути B. В этом случае после отщепления водорода от C(4')-положения для выщепления гетероциклов необходимо присоединение некоего аналога OH-радикала. Можно предположить два механизма гидроксирования C(4'). В первом случае (34) C(4')-радикал рекомбинирует с гидроксильным радикалом, связанным с антибиотиком, аналогично механизму, предложенному для цитохрома P-450 и металлопорфиринов.¹¹¹ Во втором случае (35) C(4') радикал может окисляться вторым эквивалентом активированного антибиотика, давая карбокатион, который быстро взаимодействует с водой. В пользу второго пути говорят результаты экспериментов с использованием изотопов кислорода, которые будут обсуждены ниже.



Образующееся соединение **63** расщепляется, выделяя свободный гетероцикл. Остаток окисленной дезоксирибозы **55** в физиологических условиях остается связанным с цепью ДНК. В щелочных условиях происходит отщепление 3'-концевого фрагмента в виде фосфомоноэфира. Во втором фрагменте на 3'-фосфатном конце остается продукт окисления сахара – 3-гидрокси-5-оксо-1-циклопентенил **66**.

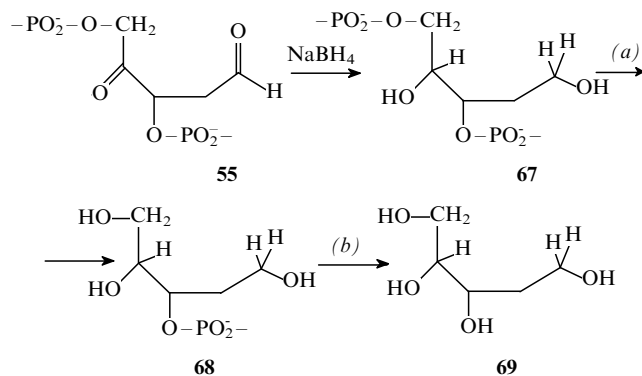


Некоторые аспекты этого механизма были подтверждены экспериментально. В работе¹¹² авторы, используя модельный субстрат d(CGCTTAAAGCG), содержащий единственный расщепляемый блеомицином сайт по третьему дезоксицитидину, выделили продукт CrGrx и определили его структуру прямым сравнением с синтезированными аналогами. Это соединение соответствовало предложенному в схеме продукту **56**.

Однако, в работе не была прослежена корреляция между количеством выделенных гетероциклов и количеством

щелочеллабильных продуктов модификации дезоксирибозы.

В работах^{113, 114} был предложен альтернативный подход к идентификации продукта **55**. После инкубации модельного субстрата d(CGCGCG) в анаэробных условиях с Fe(III) · BIm и H₂O₂, продукт окисления **55** был стабилизирован восстановлением NaBH₄. После ферментативной деградации полимера остаток дезоксирибозы **69** был идентифицирован с помощью хроматомасс-спектрометрии путем сравнения с синтезированными аналогами 2-дезоксид-*D*-эритро-пентитолом и 2-дезоксид-*D*-трео-пентитолом:



(a) обработка 3₁-нуклеазой и щелочной фосфатазой;

(b) обработка фосфодиэстеразой I и щелочной фосфатазой

Выделенный продукт **69** соответствовал смеси диастереомеров и его количество коррелировало с количеством выделяемых гетероциклов.

Применяя описанный подход, эти же авторы¹¹⁴ установили механизм гидроксирования C(4')-положения. Используя меченные ¹⁸O кислород или воду, они показали, что источником кислорода в 4'-кетогруппе соединения **64** является растворитель - вода, и, следовательно, гидроксирование положения C(4') происходит по второму из предложенных путей.

Таким образом, широкие исследования, проводимые в разных лабораториях, позволили установить механизм окислительной фрагментации ДНК под действием блеомицина *in vivo*, хотя отдельные этапы требуют дальнейших доказательств.

3. Окисление по C(4')-положению пентозы свободными ОН-радикалами (по данным γ-радиолиза)

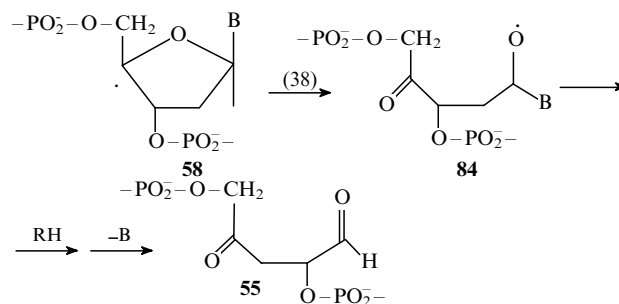
По аналогии с блеомицином отрыв атома Н радикалом ОН от углеродного атома C(4') при γ-радиолизе приводит к выщеплению свободных гетероциклов и различным модификациям пентозы. Однако при окислении блеомицином разрыв цепи в анаэробных условиях происходит только после обработки щелочью, при γ-радиолизе выщепление гетероцикла сопровождается быстрым разрывом цепи.^{25, 26} Следовательно, пути превращения C(4')-радикалов до конечных продуктов в γ-радиолизе и при окислении блеомицином различаются.

Радикал C(4') является β-фосфо-α-алкоксиалкильным, для которого, как было показано на простых моделях,²⁶ характерно быстрое элиминирование фосфатной группы. Поскольку C(4')-радикалы рибозы и дезоксирибозы содержат две фосфатные группы в β-положениях по отношению к свободной валентности, для них должны наблюдаться две конкурентные реакции: элиминирование фосфатной группы от атома C(3') (36) и от атома C(5') (37). Как следует из результатов исследования модельных соединений, отщепление от атома C(3') должно происходить быстрее, что действительно отражается на соотношении конечных продуктов (табл.12).

Предполагаемый главный путь превращения C(4')-радикала дезоксирибозы представлен на приведенной ниже схеме 4. Получаемый при отщеплении (36) фосфатной группы от C(3')-углеродного атома катион-радикал **70** может находиться в двух мезомерных формах с локализацией положительного заряда на атомах C(3') или C(5'). Этот катион-радикал быстро присоединяет молекулу воды по одному из положительно заряженных центров, образуя соответственно вновь C(4')-β-фосфо-α-алкоксиалкильный радикал **72** или C(3')-алкильный радикал **73**. Радикал **72** отщепляет вторую фосфатную группу и превращается в катион-радикал **74**. На этой стадии происходит полное выщепление из ДНК одного нуклеозидного звена. Интермедиат **74** быстро присоединяет молекулу воды по положениям C(4') или C(5'). Образовавшиеся алкильные радикалы **75** и **76** после восстановления по реакции диспропорционирования с любым другим радикалом и элиминирования интактного гетероцикла превращаются в идентифицированные конечные продукты **45** и **47**, соответственно. Радикал C(3') аналогично по реакции диспропорционирования превращается в нестабильное соединение **77**, которое после выщепления гетероцикла превращается в зарегистрированный продукт **49**. На этой стадии хотя и происходит расщепление ДНК, окисленный остаток нуклеозида остается связанным с 3'-фосфатным концом одного из фрагментов ДНК.

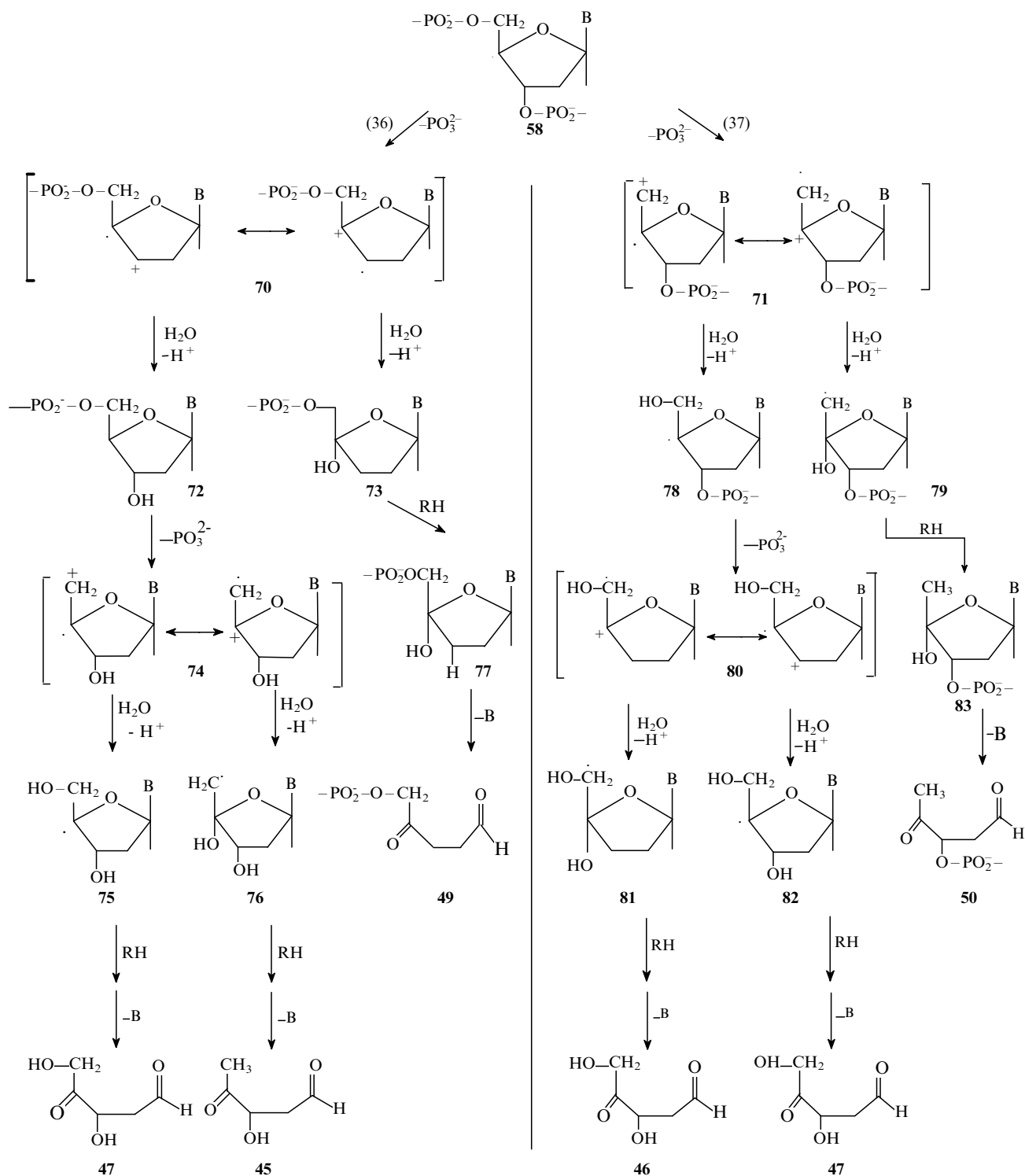
Образующийся по минорному пути (37) катион-радикал **71** подвергается аналогичным превращениям, в результате которых получаются продукты **46**, **47** и **50** (табл.12). Все они также были зарегистрированы в качестве конечных продуктов анаэробного γ-радиолиза нуклеиновых кислот.¹¹⁵

Конкурентно по отношению к реакциям элиминирования (36),(37) может иметь место изомеризация (38) радикала C(4') в радикал C(1') **84**, сопровождающаяся раскрытием фуранозного цикла.¹¹⁶ Эта реакция (38) препятствует расщеплению ДНК. Образующийся алкильный радикал **84** после восстановления элиминирует гетероцикл и превращается в продукт **55**, аналогичный продукту анаэробного окисления блеомицином.



В случае аэробного γ-радиолиза пути превращения радикала C(4') намного сложнее, чем при окислении блеомицином, несмотря на то, что некоторые продукты в обоих случаях идентичны. Молекулярный кислород, присоединяясь к C(4')-радикалу с диффузионно-контролируемой константой скорости ($k = 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), полностью подавляет реакции элиминирования фосфатных групп (36) и (37). Образующиеся пероксидрадикалы были зарегистрированы методом ЭПР. Они имеют¹¹⁷ необычно большое время жизни - 0.2-3.3 с. Дальнейшее разложение C(4')-пероксидрадикалов приводит к расщеплению нуклеиновых кислот. В качестве основных продуктов были зарегистрированы фрагменты нуклеиновых кислот, содержащие на 5'-конце фосфатную группу, и фрагменты, содержащие на 3'-конце либо фосфатную, либо фосфогликолятную группу. Кроме того, были обнаружены пропены гетероциклов и неидентифицированные продукты, дающие характерную для малонового альдегида реакцию с тиобарбитуровой кислотой.

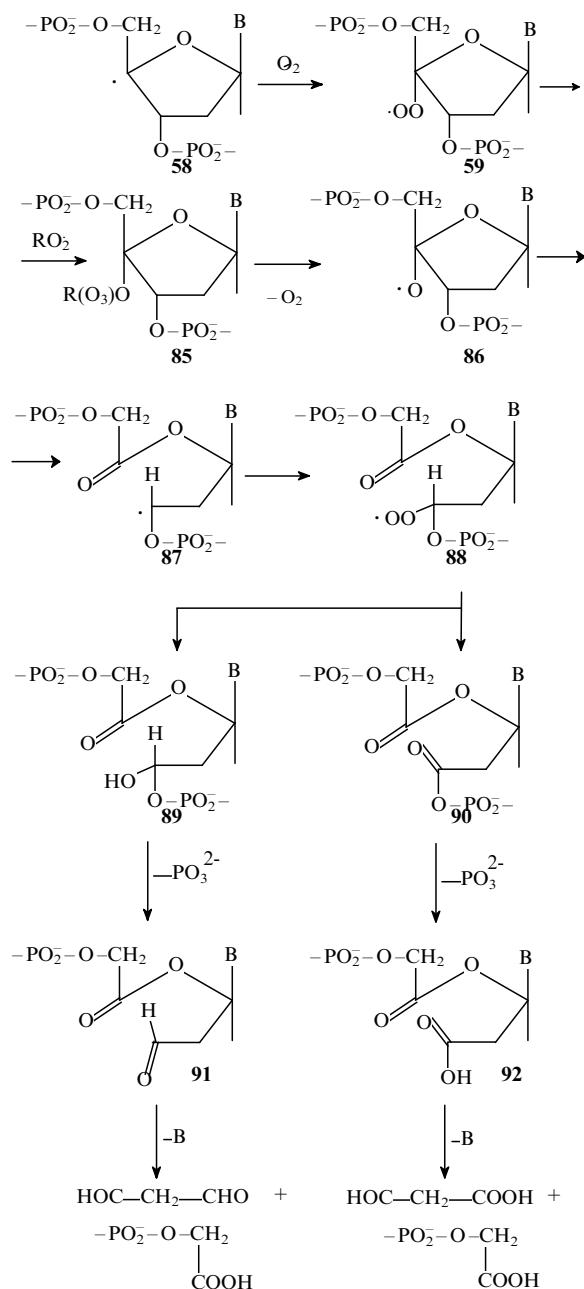
Наиболее полно согласующийся с экспериментальными



данными механизм разложения пероксирадикала **59** при γ -радиолизе предложен в работе.¹⁰⁴ Согласно этому механизму разложение пероксирадикала осуществляется по бимолекулярной реакции с образованием тетроксидов **85**. Интермедиат **59** является третичным пероксирадикалом и, в соответствии со сказанным выше, разлагается только по радикальному механизму (21) с образованием двух оксирадикалов и молекулы кислорода. Для таких оксирадикалов **86** характерна перегруппировка с селективным расщеплением связи C(3')–C(4') и образованием радикала **87**, который вновь взаимодействует с O₂. Радикал **88**, являясь вторичным пероксирадикалом, разлагается с промежуточным образованием тетроксидного интермедиата по согласованному

бимолекулярному механизму Рассела (18), изложенному выше. В результате такой реакции при C(3')-углеродном атоме с равной вероятностью появляются либо гидроксильная, либо карбонильная группа (соединения **89** и **90** соответственно). В образовавшихся соединениях **89** и **90** происходит быстрый гидролиз фосфоэфирной связи при положении C(3'), приводящий к разрыву сахарофосфатного остова и образованию фрагментов **91** и **92**. Дальнейшее разложение этих фрагментов ускоряется в кислой среде или при нагревании и приводит к выделению интактного гетероцикла и образованию 5'-фосфогликолятного конца. По некоторым предположениям при гидролизе соединения **91** могут образовываться пропенали гетероциклов (схема 5).

Схема 5



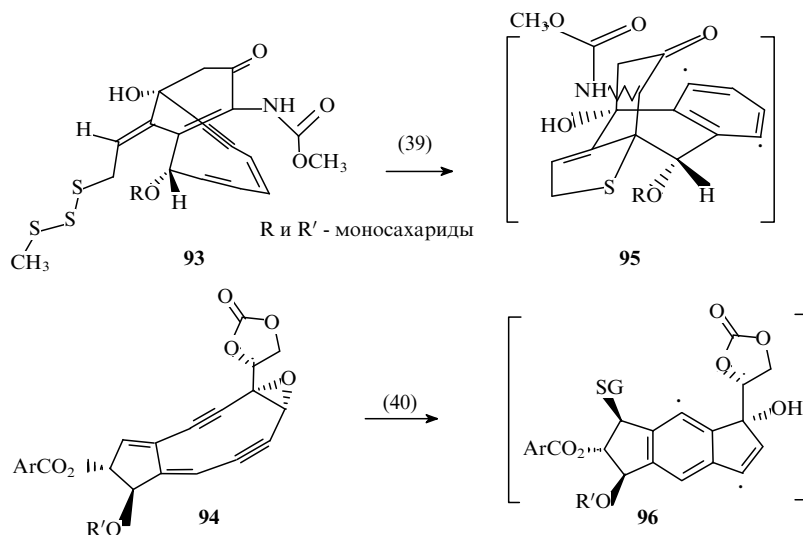
Образование свободных ОН-радикалов, как отмечалось выше, происходит и в ходе восстановления молекулярного кислорода комплексами ионов переходных металлов, например, Fe-EDTA. Можно ожидать, что в таких системах окисление нуклеиновых кислот будет протекать по тем же механизмам, как и в случае γ -радиолиза. Наиболее хорошо охарактеризованы¹¹⁸ продукты деструкции ДНК комплексом железа с метидиумпропил-EDTA (МРЕ) в присутствии O_2 и восстановителя или H_2O_2 . Показано, что происходит расщепление пентозофосфатного остова. На каждый разрыв высвобождаются один гетероцикл, образуются 5'-фосфатные концы и примерно в одинаковых количествах 3'-фосфаты и 3'-фосфогликоляты. В работе¹¹⁸ механизм деструкции ДНК не обсуждался. Тем не менее, образование продуктов согласуется с последовательностью превращений $C(4')$ -радикала пентозы, предложенной для γ -радиолиза, где при недостатке кислорода происходит выделение гетероцикла и образование свободных 5'- и 3'-фосфатных концов, а в присутствии кислорода 5'-фосфатного и 3'-фосфогликолятного концов и гетероцикла. Действительно, если вместо МРЕ $\cdot Fe(II) \cdot O_2$ использовать МРЕ $\cdot Fe(III) \cdot H_2O_2$, то 3'-фосфогликоляты образуются в существенно меньших количествах.

4. Окисление по положению $C(5')$ пентозы

Преимущественное окисление по положению $C(5')$ дезоксирибозы наблюдается при расщеплении ДНК антибиотиками диен-енового типа, такими как неокарцинон 93, кальхимицин 94.^{119, 120} Эти антибиотики содержат бициклодиен-еновую структуру, способную превращаться по реакциям (39), (40) в бирадикалы 95, 96, которые атакуют дезоксирибозу и отщепляют атом Н преимущественно от углеродного атома $C(5')$.

Наиболее детально исследован механизм расщепления ДНК неокарциноном.¹²¹⁻¹²⁴ Образующийся в результате восстановления тиолами бирадикал неокарцинона 95 отщепляет, как правило, атом Н от $C(5')$ -положения пентозы, что было доказано в экспериментах с использованием нуклеиновых кислот, содержащих 2H - или 3H -изотопы атома водорода в разных положениях дезоксирибозы. При замене атома Н при углеродном атоме $C(5')$ наблюдалось как ковалентное включение атома дейтерия или трития в молекулу антибиотика, так и изотопный эффект в реакции расщепления ДНК.^{122, 125}

В меньшей степени наблюдается отщепление атома Н от положений $C(4')$ или $C(1')$. Специфичность реакции по отношению к определенному положению дезоксирибозы, по-видимому, определяется различной доступностью атомов Н



дезоксирибозы в разных участках ДНК.

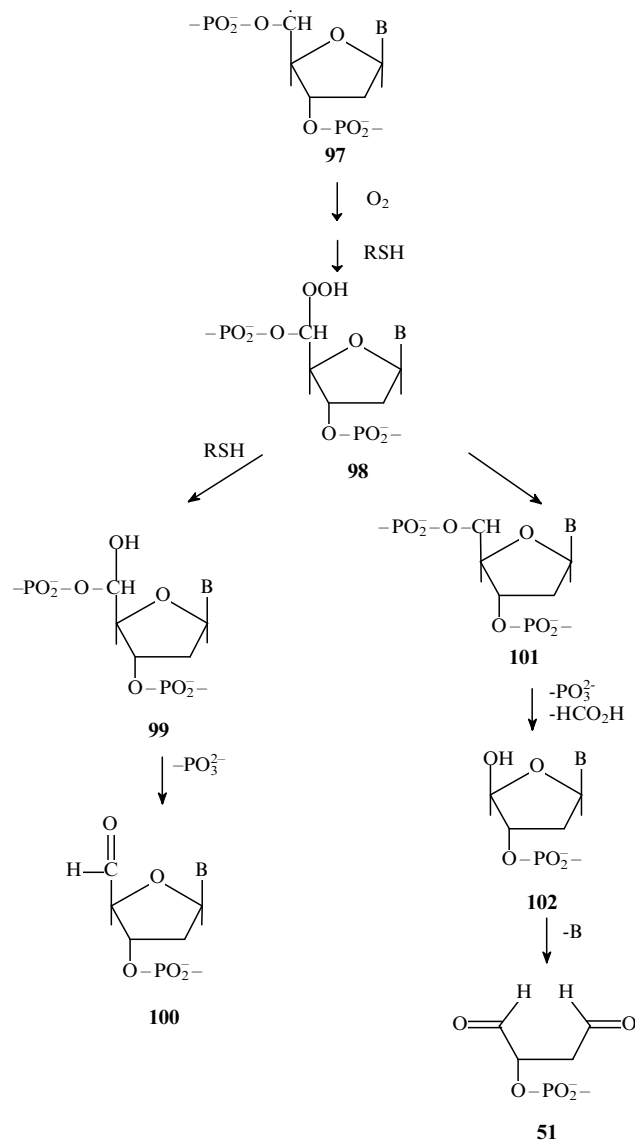
На следующем этапе в анаэробных условиях происходит только образование ковалентных аддуктов между ДНК и антибиотиком. В то же время в аэробных условиях происходит расщепление ДНК, причем наблюдается образование двух наборов продуктов разрыва. Основными (80%) являются одноцепочечные разрывы ($T > A > C > G$) с образованием в сайте расщепления фрагмента с 5'-фосфатным концом и фрагмента, содержащего на 3'-конце нуклеозид-5'-альдегид. Менее 20% разрывов представляют из себя бреши в один нуклеозид с фосфатами как по 5'-, так и по 3'-концам и сопровождаются спонтанным выделением гетероциклов.

В работе¹²⁶ показано, что в аэробных условиях вслед за активацией антибиотика следует быстрое поглощение молекулы кислорода на каждую молекулу антибиотика и последующее использование по крайней мере еще одной молекулы восстановителя. Эти результаты согласуются с реакцией, в которой молекула кислорода присоединяется к радикалу **97**, генерируя образование пероксирадикала, быстро восстанавливающегося тиолами до гидропероксида **98**. Использование $^{18}\text{O}_2$ позволило зарегистрировать включение изотопа кислорода в один из конечных продуктов окисления нуклеозид-5'-альдегид.¹²⁷ Образование 5'-альдегидного конца было доказано^{124, 125} по реакции с NaBH_4 , приводящей к восстановлению альдегидной группы до спиртовой, которая в свою очередь была зарегистрирована по реакции фосфорилирования полинуклеотидкиназой T4. Использование самокомплементарного короткого олигонуклеотида,¹²⁴ имеющего один сайт для окисления неокарциностатином, позволило выделить все конечные продукты окисления и установить их структуру.

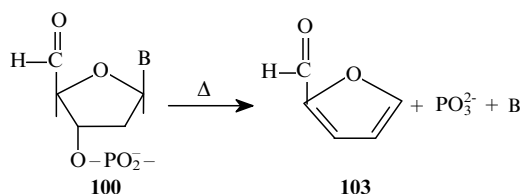
На основании полученных результатов были предложены два пути разложения гидропероксида **98**. Поскольку система содержит восстановитель (тиолы), пероксидная группа в гидропероксиде **98** может восстанавливаться до гидроксильной. Получаемое соединение **99** элиминирует фосфатную группу с 5'-конца, что приводит в итоге к разрыву цепи ДНК и образованию 3'-фосфатного и 5'-альдегидного **100** концов. Кроме того, гидропероксид **98**, по-видимому, может подвергаться перегруппировке Криге, в результате которой образуется соединение **101**. Соединение **101** элиминирует с 5'-конца фрагмент, содержащий 3'-формилфосфатную группу, которая спонтанно гидролизует с образованием свободного 5'-фосфатного конца. Второй фрагмент содержит нестабильное соединение **102**, которое разлагается до **51**, выделяя гетероцикл. В работе¹²⁷ было показано, что количество 5'-альдегиднуклеозида увеличивается с увеличением концентрации тиолов, в то время как выделение свободного гетероцикла уменьшается. Это подтверждает, что пути образования этих продуктов действительно исходят из одного предшественника, гидропероксида **98**, и конкурируют между собой.

Селективное окисление по положению C(5') дезоксирибозы было обнаружено также для катионных металлопорфиринов.¹²⁸ Однако в случае металлопорфиринов активной окисляющей частицей, как отмечалось выше, по-видимому, является высококовалентный оксокомплекс металла, для которого наиболее характерна реакция гидроксирования. Поэтому при окислении ДНК металлопорфиринами на первой стадии скорее всего происходит гидроксирование углеродного атома C(5') дезоксирибозы с образованием соединения **99**. После элиминирования фосфозфирного фрагмента из положения C(5') образуется также 5'-альдегиднуклеозидный фрагмент **100**, который при дополнительном нагревании элиминирует фурфурол **103**, отщепляя 5'-фосфатную группу.

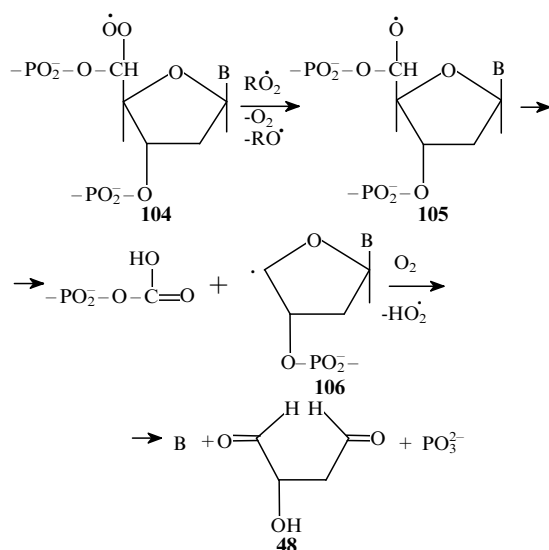
Образование 5'-альдегиднуклеозида, сопровождающееся выщелачиванием фосфата, было зарегистрировано при γ -радиоллизе водных растворов D-рибозо-5'-фосфата и гуанозин-5'-фосфата как в анаэробных, так и в аэробных условиях.¹²⁹ Однако при γ -облучении водных растворов ДНК образова-



ние 5'-альдегиднуклеозидного продукта не наблюдалось. Что касается четырехуглеродного фрагмента дезоксирибозы типа **51**, связанного с 5'-фосфатным концом ДНК, то в аэробных условиях образуется аналогичная 2'-дезокситетродиальдоза, но либо связанная с 3'-фосфатным концом **49**, либо в свободном состоянии **96**.³⁰ Образование такой тетродиальдозы можно представить себе как результат превращения 5'-пероксирадикала **104**. Пероксирадикал **104**, являясь вторичным радикалом, может разлагаться по механизму Рассела с образованием оксирадикала **105**. Последний подвергается β -фрагментации, давая один фрагмент ДНК с 3'-формилфосфатной концевой группой и другой с радикалом **106** на 5'-фосфате. На этом этапе происходит расщепление цепи ДНК между C(4')- и C(5')-углеродными атомами дезоксирибозы. Радикал **106**, являясь β -фосфо- α -алкоксиалькильным радикалом, быстро элиминирует фосфатную группу от C(3'), вновь присоединяет молекулу кислорода, и образующийся пероксирадикал разлагается по мономоле-



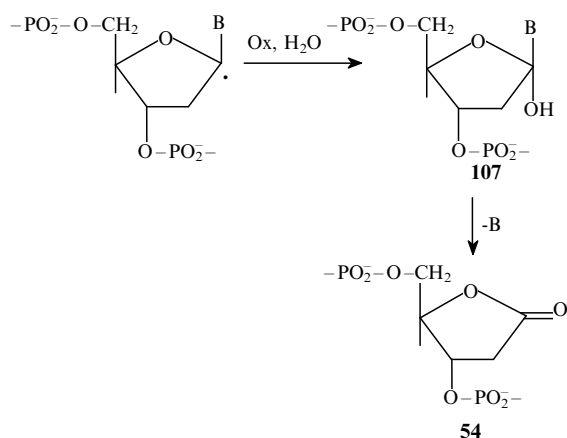
кулярному механизму с образованием тетродиальдозы **48** и выделением интактного гетероцикла.



5. Окисление по положению C(1') пентозы

Окисление по C(1')-положению приводит к образованию только одного конечного продукта как при γ -радиолизе (в аэробных и анаэробных условиях), так и при селективном окислении некоторыми "химическими нуклеазами" (Cu-1,10-фенантролин, Mn-порфирины), хотя, по-видимому, по разным механизмам.

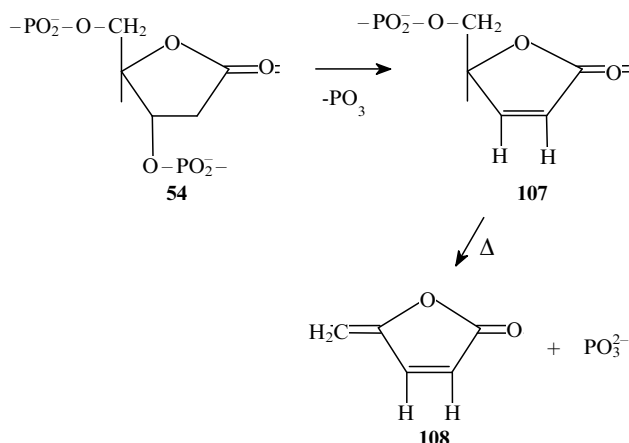
В анаэробных условиях при γ -радиолизе радикал C(1') может окисляться с образованием карбокатиона, быстрый сольволиз которого приводит к образованию **107**. Соединение **107** нестабильно и быстро высвобождает гетероцикл. Образующийся лактон **54** остается связанным с сахарофосфатным остовом ДНК, как было показано в работе.¹³¹ Наличие такого сайта может приводить к расщеплению ДНК при нагревании или в кислых условиях.



В присутствии молекулярного кислорода радикал C(1') должен быстро присоединять кислород с образованием пероксирадикала, дальнейшее превращение которого, по-видимому, по механизму Рассела также приводит к образованию лактона **54**, связанного с ДНК.

Селективное окисление ДНК по положению C(1') дезоксирибозы характерно для некоторых металлокомплексов, обладающих сродством к ДНК. Это в первую очередь Cu-1,10-фенантролин^{8, 132, 133} и Mn-тетра(4-метилпиридиний)порфирина.^{128, 134-136} Для таких комплексов

характерно образование координированных активных форм кислорода, а окисление нуклеиновых кислот осуществляется через гидроксирование положения C(1') дезоксирибозы также с образованием соединения **107**, которое разлагается до лактона **54**. Однако было показано, что соединение **54** нестабильно и его разложение сопровождается разрывом цепи ДНК с выделением 3'-фосфатного фрагмента и 5'-интермедиата. Последний при нагревании выделяет 5-метил-2,5H-фуранон **108** с освобождением 5'-фосфатного конца. Такое различие в стабильности соединения **54** в различных окислительных системах пока не объяснено. Возможно, это связано с катализом элиминирования фосфатной группы из C(3')-положения находящимися вблизи сайта модификации комплексами металлов, которые могут выступать как кислоты Льюиса.



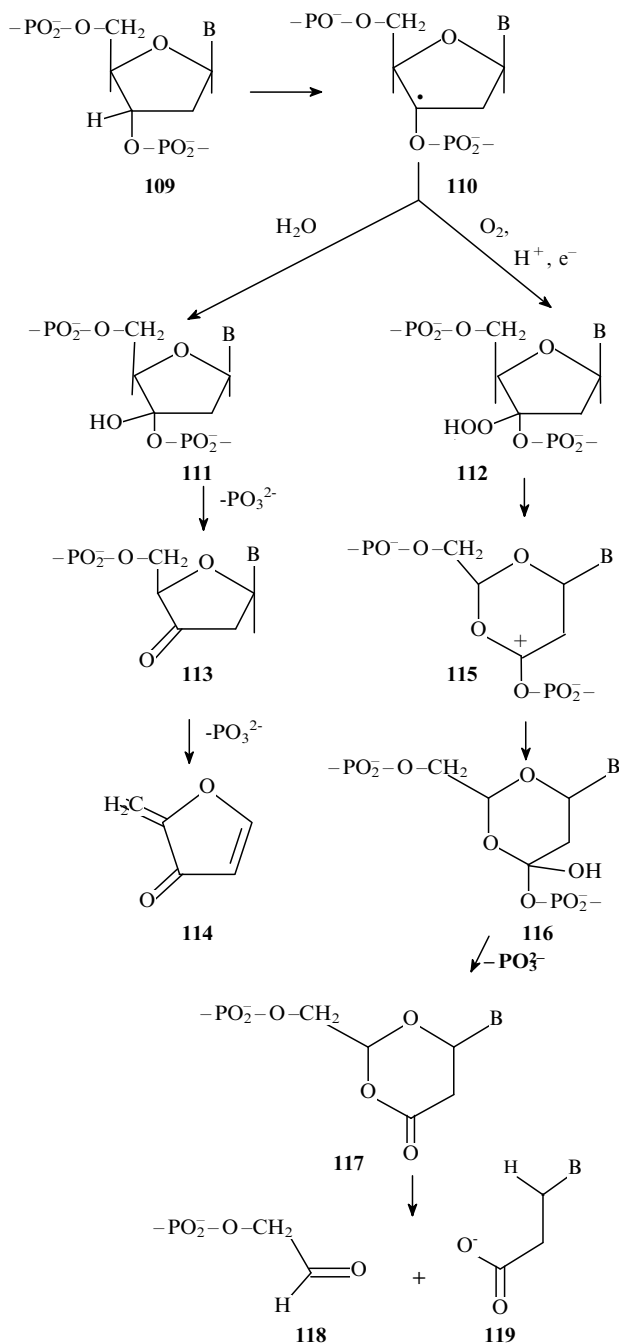
6. Окисление по положению C(3') пентозы

Окисление по C(3') и C(2')-положениям пентозы исследовано в меньшей степени. Это связано с тем, что большинство молекул, катализирующих окислительное расщепление ДНК, связывается с малой бороздкой, а атомы C(3') и C(2') располагаются в большой бороздке. И лишь совсем недавно были обнаружены соединения, которые, связываясь с ДНК, располагаются в большой бороздке и катализируют фотоокислительное расщепление ДНК. Это смешанные комплексы родия(III) с двумя молекулами 9,10-фенантрениондиимина и одной молекулой 2,2'-бипиридила или двумя молекулами 1,10-фенантролина и одной молекулой 9,10-фенантрениондиимина.¹³⁷ Эти комплексы связываются с ДНК со стороны большой бороздки за счет интеркаляции 9,10-фенантрениондииминового лиганда. При облучении последний превращается в катион-радикал,¹³⁸ который способен отщеплять атом водорода от дезоксирибозы. В соответствии с кристаллографическими исследованиями¹³⁹ при интеркаляции со стороны большой бороздки интеркалятор оказывается сближенным со связью C(3')-H.

В работе¹⁴⁰ были выделены и охарактеризованы продукты окисления короткого олигонуклеотидного дуплекса такими комплексами родия. На основе полученных данных был предложен механизм окисления ДНК по положению C(3') как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Полученный радикал **110** окисляется, по-видимому, ионом родия(II) и вслед за этим присоединяет молекулу воды. Образующееся соединение **111** нестабильно и в результате нескольких процессов β -элиминирования отщепляет 3'- и 5'-фосфатные концы и свободный гетероцикл. Окисленный остаток дезоксирибозы выделяется в виде 2-метил-3,2H-фуранона **114**.

В аэробных условиях наблюдается альтернативный путь. На первом этапе происходит быстрое присоединение моле-

кулы кислорода по положению C(3') и восстановление, образующегося пероксирадикала. Гидропероксид **112** подвергается перегруппировке Криге, приводящей к разрыву цепи ДНК с образованием 5'-фосфатных и 3'-фосфогликольальдегидных концов **118**. Выделяющиеся гетероциклы содержат остаток дезоксирибозы – пропионовую кислоту **119**.

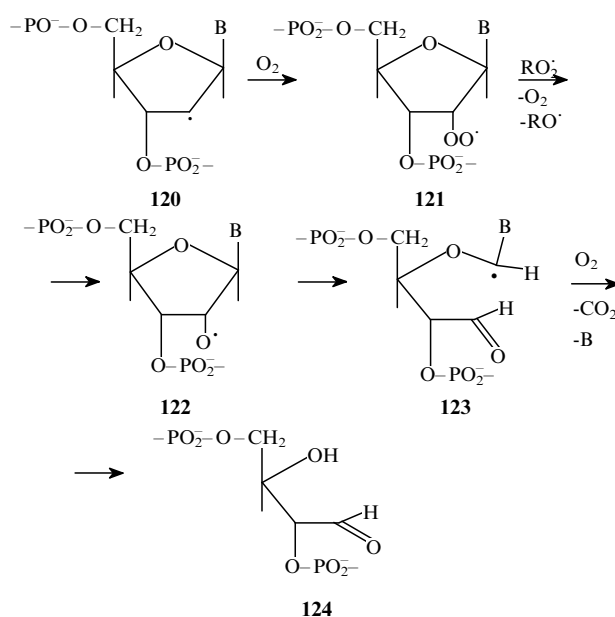


Среди продуктов γ -радиолиза нуклеиновых кислот соединения, которые могли бы быть образованы в результате окисления по C(3')-положению пентозы, идентифицированы не были. Только в случае окисления дезоксицитидин-5'-монофосфата был охарактеризован продукт превращения C(3')-радикала,¹¹⁷ но эти результаты не могут быть перенесены на нуклеиновые кислоты, поскольку в данном случае отсутствует 3'-фосфат.

7. Окисление по положению C(2') пентозы

Среди продуктов окисления ДНК в аэробных условиях было выделено только одно соединение, для которого может быть предположен механизм образования из C(2')-радикалов.¹⁴¹

Как и другие радикалы дезоксирибозы, радикал **120** быстро присоединяет молекулу кислорода, превращаясь в пероксирадикал **121**, который разлагается по механизму Рассела с образованием оксирадикала **122**. Оксирадикал **122** подвергается фрагментации с разрывом связи C(1')–C(2'), и образующийся в результате радикал **123** вновь присоединяет молекулу кислорода, вслед за чем элиминирует гетероцикл и молекулу CO₂. Образование в итоге четырехуглеродного фрагмента дезоксирибозы (эритрозы) **124** не сопровождается расщеплением нуклеиновой кислоты при физиологических условиях.



V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в качестве основных частиц, отвечающих за деструкцию нуклеиновых кислот в различных окислительных системах, чаще всего выступают свободные ОН-радикалы. Гидроксильные радикалы взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами и модельными соединениями с константами скорости, близкими к диффузионно-контролируемому, и генерируют органические свободные радикалы, либо присоединяясь к ненасыщенным связям гетероциклов, либо отщепляя атом водорода от пентозы. Преимущественно ОН-радикалы взаимодействуют с гетероциклами: в нуклеотидах и одноцепочечных нуклеиновых кислотах отношение образующихся радикалов гетероциклов к радикалам пентозы составляет 10–15. Для двуцепочечных ДНК, в которых гетероциклы становятся менее доступны, это отношение достигает 5–7. В ряде случаев радикал гетероцикла может отщеплять атом водорода от положения C(4') пентозы предыдущего мономерного звена, вызывая образование его радикала. В этом случае выход радикала пентозы достигает 40%.

При окислении нуклеиновых кислот рядом антибиотиков или комплексов переходных металлов окисляющей частицей является связанный аналог ОН-радикала – оксокомплекс высоковалентного металла. В этом случае происходит более

селективное взаимодействие с пентозой и ее радикалы становятся основными первичными продуктами реакции окисления.

Получаемые радикалы пентозы в ходе дальнейших превращений вызывают либо прямое расщепление нуклеиновых кислот, либо такие модификации пентозы, которые приводят к расщеплению после щелочной обработки. В присутствии кислорода только окисление по положениям C(3'), C(4') и C(5') пентозы приводит к разрыву цепи нуклеиновой мишени. В отсутствие кислорода только окисление по C(3')- и C(5')-положениям сопровождается расщеплением пентозофосфатного остова. Окисление по положению C(1') может вызывать расщепление нуклеиновых кислот исключительно при катализе комплексами переходных металлов.

Обычно возникновение радикалов гетероциклов в ходе дальнейших превращений приводит к необратимым модификациям гетероцикла. Некоторые из этих модификаций ослабляют гликозидную связь и вызывают образование апириимидиновых/апуриновых сайтов, что сопровождается расщеплением пентозофосфатного остова в щелочных условиях. Стабильные модификации гетероциклов, оставаясь связанными с ДНК, могут иметь свои кодирующие свойства, отличные от свойств исходного нуклеозида, и вызывать мутации.

Литература

- I. Fridovich. *Annu. Rev. Pharm. Tox.*, **23**, 239 (1989)
- W. Bors, M. Saran, E. Lengfelder et al. *Photochem. Photobiol.*, **28**, 629 (1978)
- F. Hutchinson. *Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology*, **32**, 115 (1985)
- P. A. Cerutti. *Science*, **227**, 375 (1985)
- М.Е. Вольпин, Д.Г. Кнорре, Г.Н. Новодарова, М.Ю. Тувин, О.С. Федорова, Е.И. Фролова. *Докл. АН СССР*, **298**, 363 (1988)
- E. J. Gibbs, R. F. Pasternack. *Seminars in Hematology*, **26**, 77 (1989)
- J. Stubbe, J. W. Kozarich. *Chem. Rev.*, **87**, 1107 (1987)
- D. S. Sigman. *Biochemistry*, **29**, 9097 (1990)
- P. B. Dervan. *Science*, **232**, 464 (1986)
- Д.Г. Кнорре, В.Ф. Зарытова, А.Г. Бадашкева, О.С. Федорова. *Биотехнология. Т. 37 Итоги науки и техники*, Изд-во ВИНТИ, Москва, 1991, 182
- В.М. Бердников, О.С. Журавлева. *Журн. физ. химии*, **46**, 2658 (1972)
- В.М. Бердников, Н.М. Бажин. *Журн. физ. химии*, **44**, 548 (1970)
- Г. Малер, Ю. Кордес. *Основы биологической химии*. Мир, Москва, 1970
- Е.Т. Денисов. *Кинетика гомогенных химических реакций*. Мир, Москва, 1978
- S. D. Aust, L. A. Morehouse, C. E. Thomas. *J. Free. Rad. Biol. Med.*, **1**, 3 (1985)
- B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon press, Oxford, 1986
- L. A. Morehouse, C. E. Thomas, S. D. Aust. *Arch. Biochem. Biophys.*, (232), 366 (1984)
- J. M. McCord, I. Fridovich. *J. Biol. Chem.*, (243), 5753 (1968)
- D. K. Das, A. George, X. Liu, P. S. Rao. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **165**, 1004 (1989)
- C. A. Chuaqui, A. Petkau. *Radiat. Phys. Chem.*, **30**, 365 (1987)
- P. Follin, C. Dahlgren. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **167**, 970 (1990)
- Enzyme Nomenclature: Recommendations (1978) of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry*. Acad. Press, New York, 1979, 82
- G. W. Winston, D. E. Feerman, A. I. Cederbaum. *Arch. Biochem. Biophys.*, (232), 378 (1984)
- G. Czapski, S. Goldstein. *Bioelectrochem. Bioenergetics*, **18**, 21 (1987)
- Effects of Ionizing Radiation on DNA* (Eds. A. S. Bertinchamps, J. Huttermann, W. Kohnlein, R. Teoule) Springer-Verlag, Berlin, 1978
- The Chemical Basis of Radiation Biology* (Ed. C. von Sonntag) Taylor and Francis, London, 1987
- A. Своллоу. *Радиоационная химия*, Атомиздат, Москва, 1976, 278
- J. Cadet, R. Teule. *Photochem. Photobiol.*, **28**, 629 (1978)
- O. I. Aruoma, B. Halliwell, M. Dizdaroglu. *J. Biol. Chem.*, **264**, 13024 (1989)
- O. I. Aruoma, B. Halliwell, E. Gajewski, M. Dizdaroglu. *J. Biol. Chem.*, **264**, 20509 (1989)
- W. F. Blakely, A. F. Fuciarelli, B. J. Wegher, M. Dizdaroglu. *Radiat. Res.*, **121**, 338 (1990)
- E. M. Link. *Arch. Biochem. Biophys.*, **265**, 362 (1988)
- Farhataziz, A. B. Ross. *Nat. Stand. Ref. Data System, Nat. Bur. Stand.*, **59** (NSRDS-NBS-59) (1977)
- A. Singh. *Photochem. Photobiol.*, **28**, 429 (1978).
- D. R. Kearns. *Chem. Rev.*, **71**, 395 (1971)
- A. W. N. Nieuwint, J. M. Aubry, F. Arwert et al. *Free Radical Res. Commun.*, **1**, 3 (1985)
- E. R. Blazek, W. R. Midden, M. J. Peak. *Photochem. Photobiol.*, **45**, (25) (1987)
- P. W. White. *Bioorgan. Chem.*, **18**, 440 (1990).
- J. D. Rush, Z. Maskos, W. H. Koppenol. *FEBS Lett.*, **261**, 121 (1990)
- T. G. Traylor, W.-P. Fann, D. Bandyopadhyay. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8009 (1989)
- T. G. Traylor, F. Xu. *J. Am. Chem. Soc.*, **112** (1), 178 (1990)
- S. Tsuchiya. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, (10), 716 (1991)
- W. A. Oertling, R. T. Kean, R. Weaver, G. T. Babcock. *Inorg. Chem.*, **29**, 2633 (1990)
- S.-M. Chen, Y. O. Su. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, (1), 491 (1990)
- H. Sugimoto, H.-C. Tung, D. T. Sawyer. *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 2465 (1988)
- E. Bill, X.-Q. Ding, E. L. Bominaar et al. *Eur. J. Biochem.*, **188**, 665 (1990)
- T. G. Traylor, A. R. Miksztal. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 7443 (1989)
- W. H. Koppenol, J. F. Liebman. *J. Phys. Chem.*, **88**, 99 (1984)
- Н.С. Еникопоян, Л.Ф. Богданова, Л.В. Кармилова, К.А. Аскаров. *Успехи химии*, **54**, 369 (1985)
- T. G. Bowry, K. V. Ingold. *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 5699 (1991)
- R. K. Khanna, J. S. Sutherlin, D. Lindsey. *J. Org. Chem.*, **55**, 6233 (1990)
- P. A. Grieco, T. L. Stuk. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 7799 (1990)
- Y. Watanabe, K. Takehira, M. Shimizu et al. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 927 (1990)
- K. R. Rodgers, I. M. Arafa, H. M. Goff. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1323 (1990)
- G. H. McGall, J. Stubbe. *Nucleic Acids and Molecular Biology. Vol. 2*, (Eds. F. Eckstein, D. M. J. Lilley) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1988, 87
- G. Pratviel, J. Bernadou, B. Meunier. *Biochemical. Pharmacology*, **38**, 133 (1989)
- G. R. A. Johnson, N. B. Nazhat. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 1990 (1987)
- M. Kuwabara, C. Yoon, T. Goynes et al. *Biochemistry*, **25**, 7401 (1986)
- T. B. Thederahu, M. D. Kuwabara, T. A. Larsen, B. Sigman. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 3941 (1989)
- M. Dizdaroglu, O. I. Aruoma, B. Halliwell. *Biochemistry*, **26**, 8447 (1990)
- Mechanisms of DNA Damage and Repair* (Eds. M. G. Simic, L. Grossman, A. D. Upton) Plenum, New York, 1986
- O. Inanami, M. Kuwabara, D. Endoh, F. Sato. *Radiat. Res.*, **108**, 1 (1986)
- O. Inanami, M. Kuwabara, F. Sato. *Radiat. Res.*, **112**, 36 (1987)
- M. Kuwabara, O. Inanami, D. Endoh, F. Sato. *Biochemistry*, **26**, 2458 (1987)
- M. Kuwabara, W. Hiraoka, F. Sato. *Biochemistry*, **28**, 9625 (1989)
- W. Hiraoka, M. Kuwabara, F. Sato et al. *Nucl. Acids Res.*, **18**, 1217 (1990)
- S. Fujita, S. Steenken. *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2540 (1981)
- S. V. Jovanovic, M. G. Simic. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 5968 (1986)
- D. K. Hazra, S. Steenken. *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4380 (1983)
- C. von Sonntag. *Radiat. Phys. Chem.*, **30** (5,6), 313 (1987)

71. G.W.Teebor, K.Frenkel, M.S.Goldstein. *Proc.Natl.Acad. Sci.USA*, **81**, 318 (1984)
72. K.Frenkel, A.Cummings, J.Solomon et al. *Biochemistry*, **24**, 4527 (1985)
73. M.Dizdaroglu, M.G.Simic. *Radiat.Phys.Chem.*, (26), 309 (1985)
74. G.A.Infante, P.Jirathana, J.H.Fendler, E.J.Fendler. *J.Chem.Soc.Faraday.Trans.I*, (69), 1586 (1973)
75. P.C.Shragge, A.J.Varghese, J.W.Hunt, C.L.Greenstock. *Radiat.Res.*, **60**, 250 (1974)
76. K.M.Idriss Ali, G.Scholes. *J.Chem.Soc.Faraday.Trans.I*, (76), 449 (1980)
77. S.Nishimoto, H.Ide, T.Wada, T.Kagiya. *Int.J.Radiat. Biol.*, **44**, 585 (1983)
78. H.Ide, Y.W.Kow, S.S.Wallace. *Nucl.Acids Res.*, **13**, 8035 (1985)
79. R.Teoule, J.Cadet. *J.Chem.Soc.Chem.Communs.*, 1269 (1971)
80. M.Dizdaroglu, M.G.Simic. *Radiat.Res.*, **100**, 41 (1984)
81. M.N.Schuchmann, C.von Sonntag. *J.Chem.Soc.Perkin. Trans.II.*, 1525 (1983)
82. R.Ducolomb, J.Cadet, R.Teoule. *Bull.Soc.chim.France.*, 1167 (1973)
83. J.Cadet, R.Teoule. *Bull.Soc.chim.France.*, (3,4), 885 (1975)
84. J.Cadet, R.Teoule. *Bull.Soc.chim.France.*, (3,4), 891 (1975)
85. J.Cadet, R.Nardin, L.Voituriez et al. *Can.J.Chem.*, **59**, 3313 (1981)
86. J.Cadet, R.Teoule. *Bull.Soc.chim.France.*, (3,4), 879 (1975)
87. M.Polverelli, R.Teoule. *Z.Naturforsch.*, **29c**, 12 (1974)
88. M.Polverelli, J.Ulrich, R.Teoule. *Z.Naturforsch.*, **29c**, 64 (1984)
89. P.O'Neill, S.E.Davies. *Int.J.Radiat.Biol.*, **49**, 937 (1986)
90. A.J.S.C.Vieira, S.J.Steenken. *J.Am.Chem.Soc.*, **109**, 7441 (1987)
91. A.J.S.C.Vieira, S.J.Steenken. *J.Phys.Chem.*, **91**, 4138 (1987)
92. S.Steenken. *Chem.Rev.*, **89** (3), 503 (1989)
93. A.J.S.C.Vieira, S.J.Steenken. *J.Am.Chem.Soc.*, **112**, 6986 (1990)
94. S.V.Jovanovic, M.G.Simic. *Biochem.Biophys.acta.*, **1008**, 39 (1989)
95. A.Bonice, N.Mariaggi, E.Hughes, R.Teoule. *Radiat.Res.*, **83**, 19 (1980)
96. M.Berger, J.Cadet. *Z.Naturforsch.*, **40b**, 1519 (1985)
97. J.J.van Hemmen, J.F.Bleichrodt. *Radiat.Res.*, **46**, 4476 (1971)
98. M.Dizdaroglu. *Biochemistry*, **24**, 4476 (1982)
99. S.Uesugi, T.Shida, M.Ikehara et al. *J.Am.Chem.Soc.*, **104**, 5494 (1982)
100. A.F.Fuciarelli, B.J.Wegher, E.Gajewski et al. *Radiat.Res.*, **119**, 219 (1989)
101. E.Gajewski, G.Rao, Z.Nackerdien, M.Dizdaroglu. *Biochemistry*, **29**, 7876 (1990)
102. E.Gajewski, O.I.Aruoma, M.Dizdaroglu, B.Halliwell. *Biochemistry*, **30**, 2444 (1991)
103. D.Schulte-Frohlinde, C.von Sonntag. *Isr.J.Chem.*, **10**, 1139 (1972)
104. D.Schulte-Frohlinde, E.Bothe. *Z.Naturforsch.*, **39c**, 315 (1984)
105. *Bleomycin: Chemical, Biochemical and Biological Aspects* (Ed. S.M.Hecht) Springer-verlag, New York, 1979
106. S.M.Hecht. *Acc.Chem.Res.*, **19**, 383 (1986)
107. J.W.Kozarich, L.Worth, B.L.Franck et al. *Science.*, **245**, 1396 (1989)
108. G.H.McGall, L.E.Rabow, J.Stubbe et al. *J.Am.Chem.Soc.*, **109**, 2836 (1987)
109. S.Ajmera, J.C.Wu, L.Wjrt et al. *Biochemistry*, **25**, 6586 (1986)
110. R.M.Burger, S.J.Projan, S.B.Horwitz, J.Peisach. *J.Biol. Chem.*, **261**, 15955 (1986)
111. J.T.Groves, R.C.Haushalter, M.Nakamura et al. *J.Am. Chem.Soc.*, **103**, 2884 (1981)
112. H.Sugiyama, C.Xu, N.Murugesan et al. *Biochemistry*, **27**, 58 (1988)
113. L.E.Rabow, J.Stubbe, J.W.Kozarich. *J.Am.Chem.Soc.*, **112**, 3196 (1990)
114. L.E.Rabow, G.H.McGall, J.Stubbe, J.W.Kozarich. *J.Am. Chem.Soc.*, **112**, 3203 (1990)
115. M.Dizdaroglu, C.von Sonntag, D.Schulte-Frohlinde. *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 2277 (1975)
116. H.-P.Schuchmann, R.Wagner, C.von Sonntag. *Z.Naturforsch.*, **38b**, 1213 (1983)
117. D.Schulte-Frohlinde, G.Behrens, A.Onal. *Stud.Phys.Chem. Med.*, **50**, 103 (1986)
118. R.P.Hertzberg, P.B.Dervan. *Biochemistry*, **23**, 3934 (1984)
119. I.H.Goldberg. *Acc.Chem.Res.*, **24**, 191 (1991)
120. M.D.Lee, A.G.Ellestad, D.R.Borders. *Acc.Chem.Res.*, **24**, 235 (1991)
121. S.M.Meschwitz, I.H.Goldberg. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.*, **88**, 3047 (1991)
122. B.L.Frank, L.Worth, D.F.Christner et al. *J.Amer.Chem. Soc.*, **113**, 2271 (1991)
123. L.S.Kappen, I.H.Goldberg, B.L.Frank et al. *Biochemistry*, **30**, 2034 (1991)
124. H.Kawabata, H.Takeshita, T.Fujiwara et al. *Tetrahedron Lett.*, **30**, 4263 (1989)
125. L.S.Kappen, T.E.Ellenberger, I.H.Goldberg. *Biochemistry*, **26**, 384 (1987)
126. L.F.Povirk, I.H.Goldberg. *Biochemistry*, **23**, 6304 (1984)
127. D.-H.Chin, S.A.Carr, I.H.Goldberg. *J.Biol.Chem.*, **259**, 9975 (1984)
128. G.Pratviel, M.Pitie, J.Bernadou, B.Meniuier. *Angew. Chem.Int.Ed.Engl.*, **30**, 702 (1991)
129. D.Langfinger, C.von Sonntag. *Z.Naturforsch.*, **40c**, 446 (1985)
130. M.Dizdaroglu, D.Schulte-Frohlinde, C.von Sonntag. *Z.Naturforsch.*, **30c**, 826 (1975)
131. H.Urata, K.Yamamoto, M.Akagi et al. *Biochemistry*, **28**, 9566 (1989)
132. T.E.Goyne, D.S.Sigman. *J.Amer.Chem.Soc.*, **109**, 2846 (1987)
133. D.S.Sigman, A.Spasky. *Nucleic Acids and Molecular Biology. V.3*, (Eds. F.Eckstein, D.M.J.Lilley) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1989, 13.
134. J.Bernadou, B.Lauretta, G.Pratviel, B.Meunier. *C. R.Acad. Sci. Ser III*, **309**, 409 (1989)
135. G.Gasmi, M.Pasdeloup, G.Pratviel et al. *Nucl.Asid.Res.*, **19**, 2835 (1991)
136. G.Pratviel, M.Pitie, J.Bernadou, B.Meunier. *Nucl.Asid.Res.*, **19**, 6283 (1991)
137. A.M.Pyle, E.C.Long, J.K.Barton. *J.Am.Chem.Soc.*, **111**, 4520 (1989)
138. A.M.Pyle, M.Chiang, J.K.Barton. *Inorg.Chem.*, **29**, 4487 (1990)
139. A.H.G.Wang, J.Nathans, G.van der Marel et al. *Nature*, **276**, 471 (1978)
140. A.Sitlani, E.C.Long, A.M.Pyle, J.K.Barton. *J.Am.Chem. Soc.*, **114**, 2303 (1992)
141. M.Dizdaroglu, D. Schulte-Frohlinde, C.von Sonntag. *Z. Naturforsch.*, **32c**, 1021 (1987)

OXIDATIVE DEGRADATION OF NUCLEIC ACIDS

D.G.Knorre, O.S.Fedorova, E.I.Frolova

The review covers and systematizes chemical mechanisms of oxidative degradation of nucleic acids.

The bibliography – 141 references.