

HENRYK URBANEK

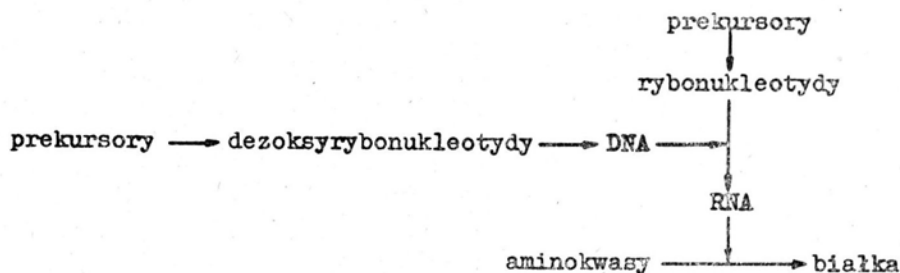
WPLYW ANALOGÓW ZASAD AZOTOWYCH KWASÓW NUKLEINOWYCH NA KOMÓRKI ROŚLINNE

W ostatnich latach w wyniku intensywnych badań nad kwasami nukleinowymi poznano bliżej budowę i znaczenie tych związków w organizmie żywym. Obecnie można uważać za udowodnione, że kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA) jest podstawowym nośnikiem informacji genetycznej niezbędnej do utrzymania i reprodukcji życia, natomiast kwasy rybonukleinowe (RNA) odgrywają ważną rolę w biosyntezie białek. Swoistość genetyczna DNA i RNA uzależniona jest od składu i kolejności zasad azotowych w łańcuchach tych makrocząsteczek.

Nasuwa się pytanie w jaki sposób informacja, zawarta w DNA, jest przekazywana z jednej strony centrom biosyntezy białek w komórce, a z drugiej komórkom potomnym. W czasie mitozy DNA reprodukuje się w taki sposób, że komórki potomne otrzymują identyczne jego makrocząsteczki.

Centrum biosyntezy białek w komórce stanowią rybosomy. Kolejność zasad DNA określa kolejność aminokwasów, która decyduje o specyficzności i funkcji białek. Jednak DNA znajdujący się w chromosomach nie może brać bezpośredniego udziału w biosyntezie białek. Przenośnikiem informacji z DNA na białka jest tzw. informacyjny RNA (Brenner, Jacob, Messelson, 1961; Gros i współpr., 1961). RNA ten syntetyzuje się na matrycy DNA i posiada analogiczny do niego skład zasad z tym, że zamiast tyminy zawiera uracyl (Spiegelman, Hall, 1961; Weiss, Nacamoto, 1961). Zsyntetyzowane cząsteczki informacyjnego RNA przechodzą do rybosomów, gdzie służą jako matryca w procesie tworzenia białek. Zaktywowane aminokwasy są przenoszone do rybosomów i związane z tzw. rozpuszczalnym RNA (Hecht, Stephenson, Zamecnik, 1958; Hoagland i współpr., 1958). Każdy aminokwas może być przenoszony tylko przez specyficzny dla niego rozpuszczalny RNA. Kolejność łączenia się aminokwasów między sobą uzależniona jest od uszeregowania się cząsteczek rozpuszczalnego RNA wzdłuż łańcucha informacyjnego RNA. O uszeregowaniu cząsteczek rozpuszczalnego RNA decyduje kolejność zasad w informacyjnym RNA. Aminokwasy, po połączeniu się między sobą wiązaniami peptydowymi oddzielają się od RNA formując cząsteczki białka.

Można więc przedstawić zależność między biosyntezą DNA, RNA i białek schematem przedstawionym na rys. 1:



Z drugiej strony białka mogą wywierać wpływ na reprodukcję kwasów nukleinowych.

W pracowniach naukowych zsyntetyzowano nienaturalne analogi puryn i pirymidyn, które mogą hamować syntezę kwasów nukleinowych, bądź też włączając się do DNA i RNA zmieniają skład i kolejność zasad tych cząsteczek. Zahamowanie syntezy kwasów nukleinowych prowadzi do zahamowania rozmnażania się i wzrostu organizmu. Zamiana części naturalnych zasad ich analogami w cząsteczkach DNA bądź RNA może wywołać w organizmie powstanie daleko idących zmian zwanych mutacjami, lub spowodować jego śmierć. Dlatego też istnieją możliwości wykorzystania nienaturalnych analogów puryn i pirymidyn do oddziaływania na procesy fizjologiczne organizmów. Zainteresowanie szczególnie budzi możliwość zastosowania tych związków, zarówno u zwierząt jak i u roślin, do leczenia chorób wywoływanych przez wirusy, bakterie i grzyby. Poza tym mogą one oddać cenne usługi przy badaniach funkcji biologicznych kwasów nukleinowych.

Pierwsze prace, dotyczące działania analogów puryn i pirymidyn na tkanki roślinne pojawiły się kilkanaście lat temu. Spośród wielu przebadanych dotąd związków niektóre okazały się aktywnymi inhibitorami rozmnażania i wzrostu komórek roślinnych. Coraz dokładniej poznaje się mechanizm działania tych inhibitorów.

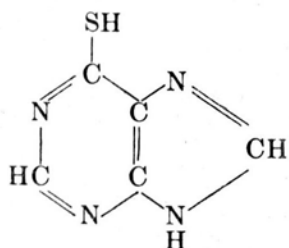
Analogi puryn

Największe zainteresowanie spośród analogów puryn wzbudziła 8-azaguanina zsyntetyzowana w roku 1945 przez Roblina i współpracowników. W licznych badaniach wykazano, że hamuje ona wzrost niektórych szczepów bakterii (Mandel, 1957; Smith, Matthwes, 1957; Mangalo, Wachsmann, 1962), infekcyjność wirusów roślinnych (Matthews, 1955; Smith, Matthews, 1957; Russell, Trim, 1957; Lindner i współpr., 1960; Kirkpatrick, Lindner, 1961), mitozę u glonów (Padilla, Blum, 1963) i roślin wyższych (Heyes, 1963), wzrost tumorów roślinnych (Urbanek, 1962).

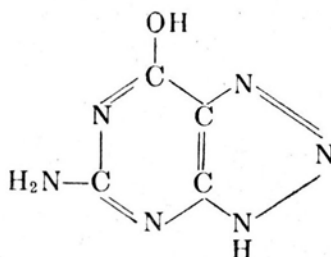
W organizmach, których wzrost ulega zahamowaniu przez azaguaninę, często

stwierdza się włączanie jej do RNA. Stąd też wielu autorów uważa, że może ona wywierać wpływ na procesy biologiczne żywych komórek poprzez RNA (Matthews 1955; Chantrenne, Devreux 1958). RNA zawierający azaguaninę jest niespecyficzny i niezdolny do spełniania swej roli biologicznej, w następstwie czego uszkodzona zostaje przede wszystkim synteza białek.

Wykryto włączanie się azaguaniny do RNA wirusa mozaiki tytoniowej (WMT) (Matthews, 1953 i 1954; Smith, Matthews, 1957), *Bacillus cereus* (Matthews, Smith, 1956; Mandel, 1957; Mandel, Markham, 1958; Chatrenne, Devreux, 1958), *Bacillus megaterium* (Mangalo, Wachsman, 1962), *Bacillus subtilis* (Richmond, 1959), *Escherichia coli* (Smith, Matthews, 1957), grochu



8-azaguanina



6-merkapturyna

i bobu (Bergquist, Matthews, 1962; Heyes, 1963). Analog może zastępować ponad 40% guaniny w RNA *Bacillus cereus*, 7—9% w RNA komórek korzeni grochu oraz około 3% w RNA wirusa mozaiki tytoniu. Wykazano, że azaguanina włącza się zarówno do cząsteczek rozpuszczalnego jak i rybosomowego RNA *B. cereus* (Otaka, 1960; Otaka, Osawa, Oota, 1961). Bergquist i Matthews (1962) donieśli, że azaguanina włącza się w większej ilości do cząsteczek RNA rozpuszczalnego i mitochondrialnego niż do RNA mikrosomowego kielków bobu i grochu.

Guanina wprowadzona do kultury *B. cereus* uprzednio hodowanej w obecności azaguaniny, szybko wypiera analoga z cząsteczek RNA bakterii (Smith, Matthews, 1957; Mandel, Markham, 1958). Chantrenne i Devreux (1960) wykazali, że przy usuwaniu azaguaniny z RNA przez guaninę cząsteczki kwasu nukleinowego nie są rozkładane, lecz zachodzi wymiana między nukleotydem guaniny a nukleotydem azaguaniny. Z drugiej strony nukleotyd azaguaniny nie posiada zdolności wypierania normalnego nukleotydu z RNA. Z powyższego wynika, że azaguanina może być włączana do RNA jedynie przy syntezie de novo łańcucha poliribonukleotydu. Przed tym jednak musi być anabolizowana do odpowiedniego nukleotydu. Zdolność anabolizowania azaguaniny do nukleotydu przez komórki bakteryjne stwierdzili Mandel i Markham (1958).

Levin (1962) doniósł, że azaguanozyno-5-dwufosforan jest polimeryzowany

przez fosforylaze polinukleotydoma otrzymanam z *Azotobacter agilis* do polirybonukleotydom.

Richmond (1959) przeprowadzajac badania z *Bacillus subtilis* stwierdzil gwaltowne hamowanie syntezy bialka juz w kilka minut (około 5 minut) po dodaniu do kultury azaguaniny. Zahamowanie to bylo calkowite przed wlaczeniem sie analoga do czasteczek RNA w wykrywalnych ilosciach. Stad autor wyciaga wniosek, ze azaguanina dziala nie przez RNA, lecz przez jakis koenzym, np. trojfosforan guanozyny, ktory jest niezbedny do syntezy bialek. Obecnośc trojfosforanu guanozyny jest konieczna przy przenoszeniu aminokwasow z rozpuszczalnego RNA do rybosomow (Hoagland i wspolpr., 1958). Azaguanina moze hamowac synteze trojfosforanu guanozyny, badz tez jako trojfosforan azaguanozyny blokowac jego dzialanie. Podobnie Blum (1963) badajac mechanizm hamowania mitozy komorek glonu przez azaguanine sugeruje, ze moze ona dzialac na poziomie nukleotydom.

Azaguanina hamuje silnie synteze bialek w komorkach *B. cereus* (Chantrenne, Devreux, 1958; Mandel, Altman, 1960; Roodyn, Mandel, 1960), *B. subtilis* (Richmond, 1959), gametofitow paproci (Bell, Zafar, 1961), tumorow roslinnych (Urbanek, 1964). Chantrenne i Devreux (1958 i 1960) doniesli, ze w czasie prawie calkowitego zahamowania syntezy bialek u *B. cereus* intensywnie jest kontynuowana synteza RNA zawierajacego azaguanine. Ten RNA jest bardziej labilny niz RNA normalny. W porownaniu z normalnym jest hydrolizowany szybciej do produktow kwasorozpuszczalnych za pomoca kwasu nadchlorowego.

Otaka (1960) natomiast stwierdzil, ze azaguanina hamuje zarowno synteze bialek jak i RNA rybosomowego.

U *E. coli* i *B. cereus* zaobserwowano gromadzenie sie kompleksu DNA—RNA w obecnoaci azaguaniny, co wedlug autorow jest przyczyna hamowania syntezy RNA (Otaka i wspolpr., 1962).

W komorkach roslinnych azaguanina moze byc szybko dezaminowana do azaksantyny, ktora jest nieaktywna jako inhibitor wzrostu (Matthews, 1953).

Innymi analogami purynowymi zaslugujacymi na uwage jako inhibitory wzrostu sa: 6-merkaptopuryna (Brockman i wspolpr., 1957), 8-azaadenina (Smith, Matthews, 1957), 6-metylopuryna (Miller, Kempner, 1963), 2,6-dwuamino-puryna (Remy, Smith, 1957). Mechanizm dzialania tych zwiazkow jest malo zbadany.

6-merkaptopuryna w komorkach niektorych szczepow *Streptococcus faecalis* moze byc anabolizowana do rybonukleotydu (Brockman i wspolpr., 1957). Stwierdzono, ze rybonukleotyd merkaptopuryny blokuje przemiane kwasu inozynowego do nukleotydu adeniny (Salser, Hutchison, Balis, 1960). Kwas inozynowy jest prekursorem normalnych nukleotydom purynowych.

Atkinson i wspolpr. (1962) sugeruja inny mechanizm dzialania merkaptopuryny. Autorzy uwarzaja, ze rybonukleotyd merkaptopuryny wzspolzawodniczy z trojfosforanem adenozyiny w laczeniu sie z mononukleotydom nikotynamidowym. Tworzy sie dwunukleotyd nikotynamidowo-merkaptopurynowy, ktory jest anta-

gonistą dwunukleotydu nikotynamidowo-adeninowego. Ten ostatni spełnia ważną rolę biologiczną w komórkach jako koenzym dehydrogenaz.

Hansen i współpr. (1962) donieśli o powstawaniu kompleksu merkaptopuryny z kwasem rybonukleinowym z drożdży.

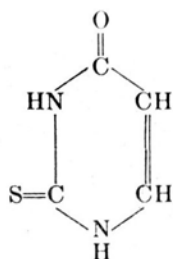
Analogi pirymidyn

Najbardziej znanymi inhibitorami wzrostu organizmów spośród analogów pirymidynowych są: 5-fluorouracyl, 2-tiouracyl, 4(6)-azauracyl.

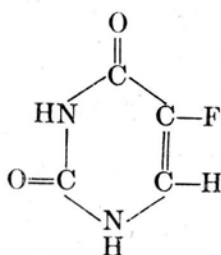
5-fluorouracyl oraz jego pochodne nukleozydowe i nukleotydydowe okazały się silnymi inhibitorami wzrostu licznych szczepów bakterii i drożdży (Heidelberger i współpr., 1957; Cohen i współpr., 1958), wzrostu i zakwitania niektórych roślin kwiatowych (Salisbury, Bonner, 1960; Brown, 1962; Deysson, Truhant, 1962; Taylor, 1963) oraz rozmnażania WMT (Gordon, Staehelin, 1959). Poza tym 5-fluorodezoksyurydyna zwiększa wrażliwość chromosomów bobu na działanie promieni X (Kihlman, 1962; Taylor, Haut, Tung, 1962).

Fluorouracyl jako antymetabolit może wpływać zarówno na metabolizm DNA jak i RNA.

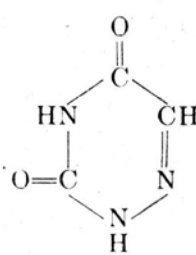
Cohen i współpr. (1958) w badaniach przeprowadzonych głównie na ekstraktach bezkomórkowych *E. coli* wykazali, że pochodna nukleotydydowa fluorouracylu, 5-fluoro-2-dezoksyurydino-5-monofosforan jest specyficznym inhibitorem syntetazy tymidylowej. Enzym ten katalizuje metylacje kwasu dezoksyurydylowego do nukleotydu tyminy. Hamowanie biosyntezy nukleotydu tyminy powoduje uszkodzenie biosyntezy DNA, co prowadzi do zahamowania mitozy.



5-fluorouracyl



2-tiouracyl



4 (6)-azauracyl

Fluorouracyl może być w komórkach anabolizowany do odpowiedniego aktywnego nukleotydu. Wprowadzenie jednak bezpośrednio do komórek nukleotydu lub nukleozydu fluorouracylu zamiast wolnej zasady wywołuje znacznie silniejszy efekt (Zeevaart, 1962; Taylor, 1963).

Stwierdzono duże obniżenie intensywności biosyntezy DNA w wyniku wpro-

wadzenia fluorouracylu do kultury *E. coli* (Cohen i wspólr., 1958; Horowitz, Saukkonen, Chargaff, 1960). Zahamowanie syntezy RNA i białek jest wg tych autorów skutkiem uszkodzenia syntezy DNA. Bonner i Zeevaart (1962) donieśli, że u *Xanthium pensylvanicum* fluorouracyl hamuje gwałtownie zarówno synteze DNA jak i RNA.

Niektóre doniesienia sugerują, że fluorouracyl może także wywierać wpływ na organizmy poprzez RNA, włączając się do jego cząsteczek. Deysson i Truhant (1962) donieśli, że 5-fluorourydyna podobnie jak 5-fluorodezoksyurydyna hamuje mitozę u *Allium sativum*. Stwierdzono włączanie się fluorouracylu do RNA *E. coli* (Horowitz, Chargaff, 1959), WMT (Gordon, Staehelin, 1959), *Xanthium pensylvanicum* (Bonner, Zeevaart, 1962). W RNA WMT analog zastępował około 30% uracylu, a w RNA *E. coli* ponad 50%. Hignett (1963) doniósł, że fluorouracyl włącza się intensywniej do rozpuszczalnego RNA niż do rybosomowego RNA u *Staphylococcus aureus*.

Naono i Gros (1960a i 1960b) stwierdzili, że skład aminokwasowy białek *E. coli* i *B. megaterium* zsyntetyzowanych w obecności fluorouracylu był zmieniony. Zawierały one ok. 20—25% mniej proliny i tyrozyny, a o tyleż więcej argininy. Ponadto autorzy wykryli, że analog w komórkach *E. coli* powoduje syntezę β -galaktozydazy i fosfatazy alkalicznej o zmienionych właściwościach fizykochemicznych. Z powyższego wynika, że pod wpływem fluorouracylu syntetyzuje się «zmodyfikowane» białko. Ponieważ zaobserwowane zmiany w syntezie białek zachodzą prawie natychmiast po wprowadzeniu analogu do komórek, autorzy sugerują, że włącza się on do frakcji RNA charakteryzującej się szybką przemianą i jednocześnie kierującej syntezą białek (informacyjny RNA). Podobnie Champe i Benzer (1962) dochodzą do wniosku, że fluorouracyl działa głównie dzięki włączaniu się do informacyjnego RNA.

Z drugiej strony zaobserwowano, że fluorouracyl zastępując ponad 30% uracylu w RNA poliovirusa nie wywoływał żadnych zmian. Nie stwierdzono hamowania syntezy, zmniejszenia infekcyjności, ani zmian w składzie aminokwasowym wirusa (Munyon, Salzman, 1962). Holoubek (1963) stwierdził, że fluorouracyl hamuje intensywność syntezy WMT na liściach tytoniu, ale nie zmienia biologicznej aktywności zsyntetyzowanych w obecności jego cząsteczek wirusa. Zarówno wirusy (w których zastąpiono do 30% uracylu analogiem) jak i RNA otrzymywany z nich miały taką samą aktywność jak kontrolne wirusy i RNA. Podobnie skład aminokwasowy białek był identyczny u wirusów zawierających fluorouracyl i kontrolnych.

Wahba i wspólr. (1963) wykazali, że polimer fluorouracylu — kwas poli-fluorourydylowy jest nieaktywny, w przeciwieństwie do kwasu poliurydylowego, jako wzór do syntezy polifenyloalaniny. Jeżeli jednak fluorouracyl jest obecny tylko w pewnych ilościach w kwasie poliurydylowym, to nie hamuje syntezy peptydu.

W komórkach drożdży (Kempner, Miller, 1963) oraz *E. coli* (Aronson, 1961) antymetabolit hamował syntezę rybosomów (gromadziły się małe nienormalne rybosomy) i białek. Autorzy uważają, że niezdolność przemiany małych rybosomów

w duże może być następstwem zahamowania syntezy rybosomowego RNA oraz powoduje uszkodzenie biosyntezy białek.

Zeevaart (1962) uważa, że chociaż fluorouracyl może włączać się do RNA, to jednak jego działanie polega na uszkodzeniu syntezy DNA, ponieważ jest ono znoszone przez tymidynę i kwas tymidylowy.

Dla udowodnienia czy włączanie się fluorouracylu do RNA może wywołać efekt biologiczny konieczne są więc jeszcze dalsze badania.

2-tiouracyl znany jest przede wszystkim jako inhibitor rozmnażania się WMT (Commoner, Mercer, 1952; Bawden, Kassanis, 1954; Francki, 1962) i wirusa żółtej mozaiki rzepy (Francki, Matthews, 1962b). Ponadto doniesiono, że tiouracyl hamuje wzrost i zakwitanie pewnych roślin kwiatowych (Ber, 1949/1950; Hess, 1959; Heslop-Harrison, 1960 i 1962; Collins, Salisbury, Ross, 1963) oraz wzrost tumorów u *Kalanchoe daigremontiana* (Bopp, 1960).

Mechanizm działania tiouracylu jest w toku badań. Stwierdzono włączanie się jego na miejsce uracylu do RNA WMT (Jeener, Roseels, 1953; Matthews, 1956; Mandel, Markham, Matthews, 1957), *Bacillus megaterium* (Hamers, 1956), tytoniu (Porter, Weinstein, 1961), *Streptocarpus wendlandii* (Hess, 1959).

Nie zostało dotychczas ostatecznie wyjaśnione czy RNA wirusa zawierający tiouracyl nie może spełniać funkcji biologicznych. Francki i Matthews (1959 i 1962a) donieśli, że tiouracyl hamuje zarówno syntezę WMT jak i zmniejsza infekcyjność wirusa, w którego RNA został włączony. Z drugiej strony Jeener (1957) stwierdził, że antymetabolit ten hamuje jedynie syntezę WMT, natomiast nie zmniejsza jego infekcyjności.

Stwierdzono, że tiouracyl hamuje syntezę RNA, DNA i białek w liściach tytoniu (Porter, Weinstein, 1957 i 1960; Wollgiehn, 1961). Kessler (1956) doniósł, że tiouracyl obniża zawartość RNA i białek w liściach drzew oliwkowych oraz winnej latorośli. Wpływa on szczególnie na zmniejszenie zawartości argininy, kwasu asparaginowego, lizyny i seryny w białkach liści tych drzew.

Hamers i Hamers-Casterman (1961) stwierdzili hamowanie syntezy β -galaktozydazy u *E. coli* przez tiouracyl.

Pochodną pirymidynową zawierającą dodatkowy atom azotu w pierścieniu jest 4(6)-azauracyl. Hamuje on wzrost mikroorganizmów (Handschumacher, Welch, 1956), zakwitanie *Xanthium pensylvanicum* (Collins, Salisbury, Ross, 1963), oraz wzrost tumorów u *Datura stramonium* (Urbanek, 1964). Działanie jego jest znoszone przez uracyl.

Skoda i Sorm (1959) stwierdzili gromadzenie się kwasu orotowego w kulturach *E. coli* traktowanych roztworem azauracylu. W dalszych badaniach zostało wykazane, że nukleotyd azauracylu, azaurydyno-5-fosforan, blokuje dekarboksylazę odpowiedzialną za przemianę orotodyno-5-fosforanu do nukleotydu uracylu (Pasternak, Handschumacher, 1959). Ponieważ nukleotyd uracylu jest prekursorem pozostałych nukleotydów pirymidynowych wchodzących w skład RNA i DNA zostaje uszkodzona ich synteza.

Komórki *E. coli* są zdolne anabolizować azauracyl do rybonukleozydu i rybonukleotydu (Skoda, Hess, Sorm, 1957; Skoda, Sorm, 1959). Przemiana wolnej zasady do azaurydyny zachodzi także w komórkach *Streptococcus faecalis* (Handschumacher, 1957). Powstawanie odporności na działanie azauracylu jest związane z niezdolnością komórek do anabolizowania go do nukleozydu.

Skoda i współpr. (1959) zwrócili uwagę na jeszcze inny możliwy mechanizm działania azauracylu. Donieśli oni, że azaurydyno-5-dwufosforan hamuje fosforylaze polinukleotydomę. Jest to enzym katalizujący tworzenie się łańcuchów polinukleotydowych. Ponadto Kalousek i współpr. (1962) stwierdzili, że azaurydyno-5-dwufosforan hamuje przyłączanie się aminokwasów do rozpuszczalnego RNA. Jest to spowodowane blokowaniem włączania się nukleotydu cytozyny do akceptorowej grupy rozpuszczalnego RNA.

Azauracyl więc należy do pochodnych pirymidynowych, które nie są włączane do cząsteczek kwasów nukleinowych.

Inną znaną azapirymidyną jest 4(6)-azatymina. Hamuje ona wzrost różnych mikroorganizmów (Prusoff, Holmes, Welch, 1954; Elion, Singer, Hitchings, 1954). Dezoksyrybonukleozyd azatyminy wykazuje większą aktywność w porównaniu z wolną zasadą (Prusoff, Welch, 1956). Prusoff (1957) wykazał, że azatymina wprowadzona do podłoża zastępuje tyminę w DNA *S. faecalis*. Między ilością włączonego analogu do DNA a stopniem zahamowania wzrostu nie było jednak żadnych zależności.

Lyman i Smillie (1963) donieśli, że azatymina włączając się do DNA komórek *Euglena gracilis* uodpornia je na działanie promieni ultrafioletowych.

Poza azatyminą włączają się na miejsce tyminy do cząsteczek DNA 5-bromouracyl, 5-jodouracyl i 5-chlorouracyl. Stwierdzono włączanie się wyżej wymienionych chlorowcowych pochodnych pirymidyn oraz ich dezoksyrybonukleozydów do DNA pewnych szczepów *E. coli* (Dunn, Smith, 1954 i 1957; Zamenhof, Griboff, 1954a; Zamenhof i współpr., 1956; Shapiro, Chargaff, 1960). Smith i współpr. (1963) wykryli włączanie się 5-jododezoksyurydyny do DNA *Vicia faba*.

Luzzati (1961) doniósł, że jodouracyl zastępując kilkadziesiąt procent tyminy w DNA *E. coli* hamuje również jego syntezę oraz wzrost bakterii. Hamowanie wzrostu *E. coli* przez 5-bromouracyl wykryli Dunn i Smith (1957). Według Zamenhofa i Griboffa (1954b) dezoksyrybonukleozyd bromouracylu jest silniejszym inhibitorem wzrostu *E. coli* niż wolna zasada.

Bromouracyl może włączać się jednak do DNA organizmów bez hamowania ich wzrostu. Po zastąpieniu wszystkiej tyminy w DNA przez bromouracyl fagi T_2 u *E. coli* wykazywały jeszcze pewien stopień infekcyjności (Litman, Pardee, 1956). Podobnie komórki *E. coli* po podstawieniu kilkadziesiąt procentów tyminy w DNA bromouracylem zachowywały żywotność (Zamenhof i współpr., 1956). DNA *Bacillus subtilis* zawierający bromouracyl zachowuje właściwości transformacyjne (Szybalski, Opara-Kubińska, Lorkiewicz, 1960). Z drugiej strony

śmiertelne dla organizmów dawki bromouracylu nie są związane z aktywniejszym włączaniem się analoga do kwasów nukleinowych.

Lorkiewicz (1962) oraz Boyce i Setlow (1963) donieśli, że bromouracyl czy bromodezoksyurydyna zastępując tyminę w DNA nie hamują wzrostu *E. coli*, lecz zwiększają wrażliwość komórek na działanie promieni ultrafioletowych. Również aktywność transformacyjna DNA, zawierającego bromodezoksyurydynę, jest bardziej wrażliwa na działanie promieni ultrafioletowych niż normalnego (Opara-Kubińska i współpr., 1963). Kaplan i współpr. (1961) stwierdzili zwiększenie wrażliwości *E. coli* zarówno na promienie ultrafioletowe jak i promienie X kiedy część tyminy w DNA jest zastąpiona bromouracylem bądź jodouracylem.

Kihlman (1962) stwierdził, że 5-bromodezoksyurydyna zwiększa ilość aberacji chromosomowych u *Vicia faba*, wywoływanych przez promienie X. Koo (1963) wykazał zwiększenie przez bromodezoksyurydynę* chromosomowych aberacji powstających pod wpływem promieni gamma. Włączanie się więc bromouracylu do DNA może wywoływać zmiany mutagenne.

Resumując powyższe wywody można powiedzieć, że mechanizm działania analogów naturalnych zasad purynowych i pirymidynowych nie został jeszcze całkowicie wyjaśniony. Być może, włączanie się analogów do cząsteczek kwasów nukleinowych jest często przyczyną zahamowania wzrostu organizmów. DNA, zawierający nienormalną zasadę może być niezdolny do replikacji, a RNA do kierowania syntezą odpowiednich białek. Niekiedy jednak włączanie się analoga do kwasów nukleinowych wywołuje jedynie mutacje albo też nie powoduje w ogóle zmian biologicznych.

Zachowywanie się analogów jako inhibitorów wzrostu może być wynikiem działania antagonistycznego ich pochodnych nukleozydowych i nukleotydydowych w stosunku do różnych koenzymów. Szczególnie mogą ulec uszkodzeniu procesy enzymatyczne odpowiedzialne za syntezę normalnych nukleotydydów i ich polimeryzację w łańcuchy polinukleotydydowe, lub związane z biosyntezą białek.

Ogólnie więc można przyjąć, że są one czynne jedynie w tych organizmach, które są zdolne do wykorzystania ich zamiast metabolitów w biosyntezie. Nie każdy jednak organizm jest zdolny do włączania ich do kwasów nukleinowych lub do metabolizowania do nukleozydów i nukleotydydów. Poza tym mogą one być w komórkach szybko rozkładane do związków nieaktywnych (Matthews, 1953; Sebesta i współpr., 1960).

Nadzieje na szerokie zastosowanie w praktyce analogów zasad azotowych kwasów nukleinowych wywodzą się z przekonania, że związki te mogą selektywnie wpływać na wzrost organizmów oraz na metabolizm i funkcję kwasów nukleinowych. Czy nadzieje te zostaną zrealizowane wykażą dalsze badania*.

Katedra Biochemii Uniwersytetu Łódzkiego

* Pani Doc. W. Potapczyk i Panu Prof. A. Dmochowskiemu składam serdeczne podziękowania za szereg cennych uwag.

LITERATURA

1. Aronson A. I., 1961. The effect of 5-fluorouracil on bacterial protein and ribonucleic acid synthesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 49, 98—107.
2. Atkinson M. R., Jackson J. F., Morton R. K., Murray A. W., 1962. Nicotinamide 6-mercaptapurine dinucleotide and related compounds: potential sources of 6-mercaptapurine nucleotide in chemotherapy. *Nature*, 196, 35—36.
3. Bawden F. C., Kassanis B., 1954. Some effects of thiouracil on virus infected plants. *J. Gen. Microbiol.*, 10, 160.
4. Bell P. R., Zafar A. H., 1961. Changes in the level of the protein nitrogen during growth of the gametophyte and the initiation of the sporophyte of *Dryopteris borrieri*. *Ann. Bot.*, 25, 531—546.
5. Ber A., 1949/1950. Wplyw tiouracylu na wzrost roślin. *Acta Soc. Bot. Poloniae*, 20, 131—137.
6. Bergquist P. L., Matthews R. E. F., 1962. Effects of 8-azaguanine on the composition of ribonucleic acids from subcellular fraction. *Biochem. J.*, 85, 313—319.
7. Bonner J., Zeevaart J. A. D.* 1962. Ribonucleic acid synthesis in the bud an essential component of floral induction in *Xanthium*. *Plant Physiol.*, 37, 43—49.
8. Bopp M., 1960. Hemmung der Induktionsvorgänge bei Wurzelhalsgallen durch 2-thiouracyl und 5-bromouracyl. *Planta*, 54, 221—230.
9. Boyce R., Setlow R., 1963. The action spectra for ultraviolet-light inactivation of systems containing 5-bromouracil-substituted deoxyribonucleic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 68, 446—454.
10. Brenner S., Jacob F., Meselson M., 1961. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature*, 190, 576—581.
11. Brockman R. W., Sparks M. C., Simpson M. S., 1957. A comparison of the metabolism of purines and purine analogs by susceptible and drug-resistant bacterial and neoplastic cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 26, 671—672.
12. Brown J. A. M., 1962. Effect of thymidine analogues on reproductive morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 196, 51—52.
13. Champe S. P., Benzer S., 1962. Reversal of mutant phenotypes by 5-fluorouracil: an approach to nucleotide sequences in messenger RNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 48, 532—546.
14. Chantrenne H., Devreux S., 1958. Effects of 8-azaguanine on the synthesis of protein and nucleic acids in *Bacillus cereus*. *Nature*, 181, 1737—1738.
15. Chantrenne H., Devreux S., 1960. Action de la 8-azaguanine sur la synthèse des protéines et des acides nucléiques chez *Bacillus cereus*. *Biochim. Biophys. Acta*, 39, 486—499.
16. Cohen S. S., Flaks J. G., Barner H. D., Loeb M. R., Lichtenstein J., 1958. The mode of action of 5-fluorouracil and its derivatives. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 44, 1004—1012.
17. Collins W. T., Salisbury F. B., Ross C. W., 1963. Growth regulators and flowering III. Antimetabolites. *Planta*, 60, 131—144.
18. Commoner B., Mercer B. L., 1952. The effect of thiouracil on the rate of tobacco mosaic virus biosynthesis. *Arch. Biochem. Biophys.*, 35, 278—288.
19. Deysson G., Truhant R., 1962. Recherches sur les propriétés antimitotiques d'antagonistes des bases pyrimidiques naturelles. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 44, 513—523.
20. Dunn D. B., Smith J. D., 1954. Incorporation of halogenated pyrimidines into the deoxyribonucleic acid of *Bacterium coli* and its bacteriophages. *Nature*, 174, 305.
21. Dunn D. B., Smith J. D., 1957. Effects of 5-halogenated uracils on the growth of *E. coli* and their incorporation into deoxyribonucleic acids. *Biochem. J.*, 67, 494—506.
22. Elion G. B., Singer S., Hitchings G. H., 1954. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites. *J. Biol. Chem.*, 208, 477—488.
23. Brancki R. I. B., 1962. The inhibition of plant virus multiplication in two host species by 2-thiouracil. *Virology*, 17, 1—8.
24. Francki R. I. B., Matthews R. E. F., 1959. Effect of 2-thiouracil on the infectivity of tobacco mosaic virus. *Biochim. Biophys. Acta*, 34, 570—571.

25. Francki R. I. B., Matthews R. E. F., 1962a. Relation between incorporation of 2-thiouracil into tobacco mosaic virus inhibition. *Virology*, 17, 22—29.
26. Francki R. I. B., Matthews R. E. F., 1962b. Some effect of 2-thiouracil on the multiplication of turnip yellow mosaic virus. *Virology*, 17, 367—380.
27. Gordon M. P., Staehelin M., 1959. Studies on the incorporation of 5-fluorouracil into a virus nucleic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 36, 351.
28. Gros F., Hiatt H., Gilbert W., Kurland C. G., Risenbrough R. W., Watson J. D., 1961. Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*. *Nature*, 190, 581—585.
29. Hamers R., 1956. Incorporation of thiouracil in *Bacillus megaterium*. *Biochim. Biophys. Acta*, 21, 170—171.
30. Hamers R., Hamers-Casterman C., 1961. Synthesis by *Escherichia coli* of an abnormal β -galactosidase in the presence of thiouracil. *J. Molec. Biol.*, 3, 166—174.
31. Handschumacher R. E., 1957. Studies of bacterial resistance to 6-azauracil and its riboside. *Biochim. Biophys. Acta*, 23, 428—430.
32. Handschumacher R. E., Welch A. D., 1956. Microbial studies of 6-azauracil, an antagonist of uracil. *Cancer Res.*, 16, 965—969.
33. Hansen H. J., Bennett S. J., Nadler S. B., 1962. Studies on the binding of 6-mercaptapurine by ribonucleic acids in the presence of metals. *Arch. Biochem. Biophys.*, 98, 379—383.
34. Hecht L. J., Stephenson M. L., Zamecnik P. C., 1958. Dependence of aminoacid binding to soluble RNA on cytidine triphosphate. *Biochim. Biophys. Acta*, 29, 460.
35. Heidelberger C., Chaudhuri N. K., Danneberg P., Mooren D., Griesbach L., Duschinsky R., Schnitzer R. J., Plevan E., Scheiner J., 1957. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Nature*, 179, 663—666.
36. Heslop-Harrison J., 1960. Suppressive effect of 2-thiouracil on differentiation and flowering in *Cannabis sativa*. *Science*, 132, 1943.
37. Heslop-Harrison J., 1962. Effect of 2-thiouracil on cell differentiation and leaf morphogenesis in *Cannabis sativa*. *Ann. Bot.*, 26, 376—388.
38. Hess D., 1959. Die selektive blockierung eines an der Bluchinduktion beteiligten ribosenucleinsäure-eiweiss-systems durch 2-thiouracil. *Planta*, 54, 74—94.
39. Heyes J. K., 1963. The effects of 8-azaguanine on growth and metabolism in the root. *Proc. Roy. Soc., B*, 158, 208—221.
40. Hignett R. C., 1963. The incorporation of 5-fluorouracil by *Staphylococcus aureus*. *Biochem. J.*, 87, 350.
41. Hoagland M. B., Stephenson M. L., Scott J. B., Hecht R. J., Zamecnik P. C., 1958. A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis. *J. Biol. Chem.*, 231, 241—257.
42. Holoubek V., 1963. The composition of tobacco mosaic virus after the incorporation of 5-fluorouracil into the virus. *J. Molec. Biol.*, 6, 164—166.
43. Horowitz J., Chargaff E., 1959. Massive incorporation of 5-fluorouracil into a bacterial ribonucleic acid. *Nature*, 184, 1213—1215.
44. Horowitz J., Saukkonen J., Chargaff E., 1960. Effects of fluoropyrimidines on the synthesis of bacterial proteins and nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, 235, 3266—3272.
45. Jeener R., 1957. Biological effects of the incorporation of thiouracil into the ribonucleic acid of tobacco mosaic virus. *Biochim. Biophys. Acta*, 23, 351—361.
46. Jeener R., Roseels J., 1953. Incorporation of 2-thiouracil in the ribonucleic acid of tobacco mosaic virus. *Biochim. Biophys. Acta*, 11, 438.
47. Kalousek B., Rychlik I., Sorm B., 1962. Inhibition of formation of the acceptor sequence pCpCpA soluble ribonucleic acid by 6-azauridine-5'-diphosphate. *Biochim. Biophys. Acta*, 61, 368—372.
48. Kaplan H. S., Smith K. C., Tomlin P., 1961. Radiosensitization of *E. coli* by purine and pyrimidine analogues incorporated in deoxyribonucleic acid. *Nature*, 190, 794.
49. Kempner E. S., Miller J. H., 1963. The mechanism of action of purine and pyrimidine analogs in microorganisms. *Biochim. Biophys. Acta*, 76, 341—346.

50. Kessler B., 1956. Effect of methyltryptophan and thiouracil upon protein and ribonucleic acid synthesis in certain higher plants. *Nature*, 178, 1337—1338.
51. Kihlman B. A., 1962. Different effects of 5-fluorodeoxyuridine and 5-bromodeoxyuridine on the frequencies of chromatid aberrations obtained in *Vicia faba* after irradiation with X-ray. *Exptl. Cell Res.*, 27, 604—607.
52. Kirkpatrick H. C., Lindner R. C., 1961. Protection of cucumber seedlings from stone fruit ringspot virus by 8-azaguanine. *Phytopathology*, 51, 727—730.
53. Koo B. K. S., 1963. Synergistic effect of 5-bromodeoxyuridine and γ rays on chromosomes. *Science*, 141, 261—262.
54. Levin D. H., 1962. The polymerization of 8-azaguanine-5'-diphosphate by polynucleotide phosphorylase. *Biochim. Biophys. Acta*, 61, 75—81.
55. Lindner R. C., Cheo P. C., Kirkpatrick H. C., Govindu H. C., 1960. Some effects of 8-azaguanine on tobacco mosaic virus replication. *Phytopathology*, 50, 884—889.
56. Litman R. M., Pardee A. B., 1956. Production of bacteriophage mutants by a disturbance of deoxyribonucleic acid metabolism. *Nature*, 178, 529—531.
57. Lorkiewicz Z., 1962. The effect of incorporation of bromodeoxyuridine on *Escherichia coli*. *Acta Microbiol. Polonica*, 11, 159—170.
58. Luzzati D., 1961. Effect physiologiques d'un analogue de la thymine le 5-iodouracile chez *E. coli*. *Biochim. Biophys. Acta*, 51, 117—129.
59. Lyman H., Smillie R. M., 1963. The prevention of the ultraviolet — induced block of chloroplast replication in *Euglena gracilis* by azathymine. *Plant Physiol.*, 38, 3 (suppl.).
60. Mangalo R., Wachsman J. T., 1962. Effect of 8-azaguanine on growth and viability of *Bacillus megaterium*. *J. Bacteriol.* 83, 27—34.
61. Mandel H. G., 1957. Incorporation of 8-azaguanine and growth inhibition in *Bacillus cereus*. *J. Biol. Chem.*, 225, 137—150.
62. Mandel H. G., Altman R., 1960. The depression of the incorporation of sulfur amino acids into *Bacillus cereus* by 8-azaguanine. *J. Biol. Chem.*, 235, 2029—2035.
63. Mandel H. G., Markham R., 1958. The effects of 8-azaguanine on the biosynthesis of ribonucleic acid in *Bacillus cereus*. *Biochem. J.*, 69, 297—306.
64. Mandel H. G., Markham R., Matthews R. E. B., 1957. The distribution of thiouracil in nucleic acid of tobacco mosaic virus. *Biochim. Biophys. Acta*, 24, 205—206.
65. Matthews R. E. B., 1953. Incorporation of 8-azaguanine into nucleic acid of tobacco mosaic virus. *Nature*, 171, 1065—1066.
66. Matthews R. E. B., 1954. Effects of some purine analogues on tobacco mosaic virus. *J. Gen. Microbiol.*, 10, 521—532.
67. Matthews R. E. B., 1955. Infectivity of turnip yellow mosaic virus containing 8-azaguanine. *Virology*, 1, 165—175.
68. Matthews R. E. F., 1956. Thiouracil in tobacco mosaic virus. *Biochim. Biophys. Acta*, 19, 559.
69. Matthews R. E. F., Smith J. D., 1956. Distribution of 8-azaguanine in the nucleic acids of *B. cereus*. *Nature*, 177, 271—272.
70. Miller J. H., Kempner E. S., 1963. Effects of an adenine analog on yeast metabolism. *Biochim. Biophys. Acta*, 76, 333—340.
71. Munyon W., Salzman N. P., 1962. The incorporation of 5-fluorouracil into poliovirus. *Virology*, 18, 95—101.
72. Naono S., Gros F., 1960a. Effects d'un analogue de base nucleique sur la biosynthese de proteines bacteriens. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 250, 3527—3528.
73. Naono S., Gros F., 1960b. Synthese par *E. coli* d'une phosphatase modifiee en presence d'une analogue pyrimidique. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 250, 3889—3891.
74. Opara-Kubińska Z., Kurylo-Borowska Z., Szybalski W., 1963. Effect of ultraviolet light on the molecular properties of normal and halogenated deoxyribonucleic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 72, 298—309.

75. Otaka E., 1960. Effect of 8-azaguanine on ribonucleic acid and protein synthesis in *Bacillus cereus*. Exptl. Cell Res., 21, 229—232.
76. Otaka E., Osawa S., Oota Y., 1961. The effect of 8-azaguanine on the ribonucleic acid of the ribosomes in *Bacillus cereus*. J. Molec. Biol., 3, 693—698.
77. Otaka E., Osawa S., Oota Y., Ishihama A., Mitsui H., 1962. Ribosomal ribonucleic acid synthesis in growing bacterial cells. Biochim. Biophys. Acta, 55, 310—325.
78. Padilla G. M., Blum J. J., 1963. Inhibition of cell division of *Astasia longa* by 8-azaguanine. Exptl. Cell Res., 32, 289—304.
79. Pasternak C. A., Handschumacher R. E., 1959. The biochemical activity of 6-azauridine. J. Biol. Chem., 234, 2992.
80. Porter C. A., Weinstein L. H., 1957. Biochemical changes induced by thiouracil in cucumber mosaic virus-infected and noninfected tobacco plants. Contribs. Boyce Thompson Inst., 19, 87—106.
81. Porter C. A., Weinstein L. H., 1960. Altered biochemical patterns induced in tobacco by cucumber mosaic virus infection by thiouracil and by their interaction. Contribs. Boyce Thompson Inst., 20, 307—320.
82. Porter C. A., Weinstein L. H., 1961. Incorporation of 2-thiouracil into RNA and acid-soluble nucleotides of Varmorr 48 Tobacco. Virology, 15, 504—506.
83. Prusoff W. H., 1957. Studies on the mechanism of action of 6-azathymine. J. Biol. Chem., 226, 901—910.
84. Prusoff W. H., Holmes W. L., Welch A. D., 1954. Biological investigation of 6-azathymine a thymine analog. Cancer Res., 14, 570—574.
85. Prusoff W. H., Welch A. D., 1956. Azathymine deoxyriboside a microbial inhibitor. J. Biol. Chem., 218, 929—939.
86. Remy C. N., Smith M. S., 1957. Metabolism of 2,6-aminopurine, J. Biol. Chem., 228, 325—338.
87. Richmond W. H., 1959. Effect of inhibitors on lytic enzyme synthesis by *Bacillus subtilis*. Biochim. Biophys. Acta, 34, 325—340.
88. Roblin R. O., Lampen J. O., English J. P., Cole Q. P., Vaughan J. R., 1945. Methionine and purine antagonists and their relation to the sulfonamides. J. Amer. Chem. Soc., 67, 290—294.
89. Roodyn D. B., Mandel H. G., 1960. Differential effect of 8-azaguanine on cell wall and protoplasmic protein synthesis in *Bacillus cereus*. J. Biol. Chem., 235, 2036—2044.
90. Russell G. E., Trim A. R., 1957. Effect of 8-azaguanine on sugar beet infected with beet yellow virus. Nature, 179, 151.
91. Salisbury F. B., Bonner J., 1960. Inhibition of photoperiodic induction by 5-fluorouracil. Plant Physiol., 35, 173.
92. Salsler J. S., Hutchison D. J., Balis M. E., 1960. Studies on the mechanism of action of 6-mercaptopurine in cell-free preparations. J. Biol. Chem., 235, 429.
93. Schapiro H. S., Chargaff E., 1960. Severe distortion by 5-bromouracil of the sequence characteristics of a bacterial deoxyribonucleic acid. Nature, 188, 62—63.
94. Sebesta K., Bauerova J., Sorm F., Sormova Z., 1960. Transformations of uracil analogues in cucumber seedlings. Collect. Czechosl. Chem. Commun., 25, 2899—2905.
95. Skoda J., Hess V. F., Sorm F., 1957. Production of 6-azauracil riboside by a culture of *E. coli* grown in the presence of 6-azauracil. Chem. Listy, 51, 1194—1196.
96. Skoda J., Kara J., Sormova Z., Sorm F., 1959. Inhibition of *Escherichia coli* polynucleotide phosphorylase by 6-azauridine diphosphate. Biochim. Biophys. Acta, 33, 579.
97. Skoda J., Sorm F., 1959. The accumulation of orotic acid uracil and hypoxanthine by *E. coli* in the presence of 6-azauracil and the biosynthesis of 6-azauridilic acid. Collection Czech. Chem. Commun., 24, 1331.
98. Smith H. H., Kugelman B. H., Commerford S. L., Szybalski W., 1963. Incorporation of 5-iododeoxyuridine into DNA of plant cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 49, 451—457.
99. Smith J. D., Matthews R. E. F., 1957. The metabolism of 8-azapurines. Biochem. J., 66, 323—333.

100. Spiegelman S., Hall B. D., Storck R., 1961. The occurrence of natural DNA-RNA complexes *E. coli* infected with T₂ phage. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 47, 1135—1141.
101. Szybalski W., Opara-Kubińska Z., Lorkiewicz Z., 1960. Transforming activity of deoxyribonucleic acid labelled with 5-bromouracil. Nature, 188, 743.
102. Taylor J. H., 1963. Effects of inhibitors of thymidylate synthetase on chromosome breakage and reunion. Exptl. Cell Res., Suppl. 9, 99—106.
103. Taylor J. H., Haut W. F., Tung J., 1962. Effects of fluorodeoxyuridine on DNA replication chromosome breakage and reunion. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 48, 190—198.
104. Urbanek H., 1962. Próby hamowania wzrostu tumorów *Datura stramonium* antymetabolitami. Acta Soc. Bot. Poloniae, 31, 387—393.
105. Urbanek H., 1964. Biochemiczne badania tumorów *Datura stramonium* hamowanych analogami zasad azotowych kwasów nukleinowych. Zeszyty Naukowe U. Ł, seria II, w druku.
106. Wahba A. J., Gardner R. S., Basilio C., Miller R. S., Speyer J. F., Lengyel P., 1963. Synthetic polynucleotides and the amino acid code. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 49, 116.
107. Weiss S. B., Nacamoto T., 1961. On the participation of DNA in RNA biosynthesis. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 47, 694—697.
108. Wollgiehn R., 1961. Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nukleinsäure und Eiweißstoffwechsel in grünen Blättern. Flora, 150, 117—127.
109. Zamenhof S., Griboff G., 1954a. Incorporation of halogenated pyrimidines into the deoxyribonucleic acids of *Bacterium coli* and its bacteriophages. Nature, 174, 306.
110. Zamenhof S., Griboff G., 1954b. *E. coli* containing 5-bromouracil in its deoxyribonucleic acid, Nature, 174, 307—308.
111. Zamenhof S., Reiner B., de Giovanni R., Rich K., 1956. Introduction of unnatural pyrimidines into deoxyribonucleic acid of *Escherichia coli*. J. Biol. Chem., 219, 165—173.
112. Zeevaart J. A. D., 1962. DNA multiplication as a requirement for expression of floral stimulus in *Pharbitis nil*. Plant Physiol., 37, 296—304.