O swoistym antagonizmie między tiouracylem a uracylem

(On the specific antagonism between thiouracil and uracil).

ARTUR BER

(Z Zakładu Endokrynologii Akademii Medycznej w Łodzi)

(wpłynęło 16. IX. 1949)

W poprzednim doniesieniu podałem, iż roztwory tiouracylu wywierają wpływ hamujący na wzrost łodyg i korzeni u owsa, gorczycy, rzeżuchy i gryki i wyraziłem przypuszczenie, że wchodzi tu w grę swoiste blokowanie kwasów nukleinowych, do których tiouracyl dostaje się na zasadzie podobieństwa budowy przestrzennej z uracylem. Chcąc sprawdzić słuszność tej hipotezy, przeprowadziłem dalsze badania w tym kierunku posługując się tą samą techniką, co w doświadczeniach nad wpływem barbituratów na wzrost roślin.

Przedewszystkiem chodziło o stwierdzenie czy tiouracyl nie unieczynnia względnie nie rozkłada samej auksyny. W tym celu wydało mi się wskazane podlewanie ziarn roztworem tiouracylu zawierającym nadto różne ilości heteroauksyny*. Uprzednio nastawione doświadczenia wykazały, że kwas β -indolooctowy w naszych warunkach eksperymentalnych pobudza wzrost łodyg i korzeni, dając maksymalne wyniki w rozcieńczeniu około 1/350 000 000. Jeśli jednak do roztworu tiouracylu hamującego całkowicie wzrost roślin (np. 1/25 000 dla gorczycy i 1/10 000 dla owsa) dodawać rozmaite ilości heteroauksyny, uzyskując stężenia od 1/10 000 000 do 1/10 000 000 000, to żadnego wzrostu nie stwierdzamy. Podobne efekty uzyskaliśmy stosując łącznie z tiouracylem sole sodowe kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego lub α -naftylooctowego oraz kwas ni-

* Firmie Hoffman—La Roche w Bazylei dziękuję serdecznie za bezinteresowne przesłanie heteroauksyny, uracylu, tyminy i kwasu nukleinowego.

trofenoksyoctowy (tylko u dwuliściennych) w stężeniu $1/10'000'000'000$ powodującym w naszych warunkach doświadczalnych pobudzenie wzrostu lodyg. Z doświadczeń tych wynika, że auksyny nie są w stanie spowodować wzrostu u roślin pozostających pod wpływem tiouracylu.

Z kolei przystąpiliśmy do zbadania wpływu uracylu na wzrost roślin. Okazało się, że w stężeniu $1/5'000$ zarówno uracyl jak i tymina (5-metylouracyl) powodują pobudzenie wzrostu gorczycy i owsa. W stężeniach mniejszych (od $1/20'000$ do $1/100'000$) efekt ten szybko maleje i wzrost roślin jest taki sam jak w kontroli.

Zgodnie z teoretycznymi przewidywaniami dodatek uracylu do tiouracylu niweczy całkowicie jego hamujące działanie na wzrost roślin. Antagonizm ten jest wybitnie zależny od stężenia obydwu związków. Przy użyciu stężenia $1/25'000$ tiouracylu, stanowiącego wzrost gorczycy, uzyskać można wzrost normalny stosując równocześnie uracyl w stężeniu $1/5'000$. W roztworze $1/10'000$ uracylu wzrost jest prawie normalny, gorszy jednak niż w kontroli, w stężeniu $1/25'000$ jeszcze wzrost jest zaznaczony, w stężeniu $1/50'000$ wzrostu brak. Podobnie u owsa dodatek uracylu w stężeniu $1/2'000$ do tiouracylu (w rozcieńczeniu $1/10'000$) przywraca normalny wzrost, w stężeniu $1/5'000$ powoduje wzrost gorszy niż w kontroli o około 50%, w stężeniu $1/10'000$ jeszcze powoduje wzrost odpowiadający 20% kontroli, w stężeniu $1/25'000$ praktycznie nie działa.

Ryc. 1.

Ryc. 1 pokazuje nam graficznie jak rośnie owies w roztworze tiouracylu ($1/10'000$) z dodatkiem różnych ilości uracylu (stężenie $1/2'000$ do $1/25'000$) w porównaniu z kontrolą (wzrost na wodzie destylowanej) oznaczoną jako 100%.

Swoisty antagonizm istniejący między tiouracylem a uracylem wykazać można jeszcze i w inny sposób, a mianowicie, przenosząc nasiona po różnie długim okresie działania tiouracylu do roztworu uracylu względnie dla porównania do wody destylowanej.

Można w ten sposób pobudzić do kiełkowania nasiona, które podlegały nawet w ciągu kilku dni działaniu tiouracylu w stężeniu absolutnie hamującym wzrost. Rozwój roślin zależy w takim przypadku wybitnie od długości okresu działania tiouracylu — im dłuższy ten okres, tym trudniej pobudzić nasiona do kiełkowania. Na ryc. 2

Ryc. 2.

widzimy graficznie przedstawiony wzrost gorczycy, w stosunku do kontroli hodowanej na wodzie destylowanej, którą przyjmujemy za 100%. Widzimy, że po jednodniowym działaniu tiouracylu w stężeniu $1/25\ 000$ przeniesienie nasion do roztworu uracylu o stężeniu $1/5\ 000$ pobudza je do normalnego kiełkowania i wzrostu. Po dwudniowym działaniu tiouracylu uracyl nie jest już w stanie pobudzić roślinek do normalnego wzrostu, ale osiągnięty wynik nie jest o wiele gorszy od kontroli. Po trzydniowym działaniu tiouracylu można przenosząc nasiona do uracylu uzyskać wzrost dochodzący do 60%. W miarę przedłużania się czasu działania tiouracylu wynik uzyskany następowym działaniem uracylu jest coraz gorszy i wreszcie po 8—9 dniach uracyl w ogóle nie jest w stanie pobudzić nasion do kiełkowania.

Nasiona przeniesione z tiouracylu do wody destylowanej wykazują znacznie słabszy wzrost niż w roztworze uracylu (patrz krzywa dolna). Po cztero- do pięciodniowym działaniu tiouracylu woda destylowana nie jest w stanie w ogóle pobudzić nasion do kiełkowania.

Ryc. 3.

Na ryc. 3 widzimy trzynastodniową hodowlę gorczycy. W skrajnej płytce po stronie lewej (Nr 4) zawierającej roztwór tiouracylu w stężeniu $1/25\ 000$ wzrost jest zupełnie zahamowany. W następnej płytce (Nr 15) widzimy zaledwie ślad kiełkowania u nasion przeniesionych na 9 dni do wody destylowanej po czterodniowym pobycie w roztworze tiouracylu ($1/25\ 000$). Trzecia z kolei płytka (Nr 16) zawiera nasiona rosnące w ciągu 9 dni w roztworze uracylu ($1/5\ 000$) po uprzednim czterodniowym pobycie w roztworze tiouracylu ($1/25\ 000$). Widzimy, że wzrost w tej płytce w porównaniu z płytką kontrolną (Nr 28 — ostatnia z prawej strony), w której nasiona przebywają w wodzie destylowanej w ciągu 9 dni, wynosi około 30%.

Jeśli w wyżej opisanych doświadczeniach zastąpimy uracyl tyminą to okaże się, że działa ona bez porównania słabiej, dodatek bowiem tyminy w stężeniu $1/5\ 000$ do hamującej dawki tiouracylu powoduje tylko ślad wzrostu u gorczycy lub owsa.

Z powyższego wynika, że działanie tiouracylu na rośliny w żadnym razie nie ma charakteru toksycznego, daje się bowiem przywrócić podawaniem uracylu. Z tego samego względu przyjąć musimy, że tiouracyl nie rozkłada ani nie unieczynnia auksyn, można bowiem uzyskać prawidłowy wzrost roślin mimo stosowania tiouracylu, jeśli podawać go łącznie z uracylem względnie stosować uracyl następowo. Ponieważ zaś tiouracyl nie łączy się z uracylem co wyklucza jego unieczynnienie w samym roztworze, przyjąć musimy, iż tiouracyl wchodzi w reakcję z jakimiś ośrodkami czynnymi w komórce roślinnej i że z tymi samymi ośrodkami reagować może uracyl, przy czym obecność tego ostatniego warunkuje prawidłową czynność tych ośrodków. Najprawdopodobniej ośrodkami tymi są kwasy nukleinowe, zgodnie z przypuszczeniami wyrażonymi uprzednio. Zasluguje na uwagę, że tymina działa bardzo słabo antagoniście w stosunku do tiouracylu. Widocznie wprowadzenie grupy metyle-

nowej w pozycji 5 znosi właściwość podstawiania się w to samo miejsce w kwasie nukleinowym, w które wstawia się tiouracyl względnie uracyl.

Połączenie tiouracylu z kwasami nukleinowymi jest prawdopodobnie dość luźne i łatwo ulegające rozpadowi. Świadczy o tym wyżej opisane doświadczenie, w którym szybko następujące przeniesienie nasion z roztworu tiouracylu do uracylu powoduje normalny wzrost roślin. Z biegiem czasu połączenie między tiouracylem, a kwasem nukleinowym staje się coraz silniejsze i trudniejsze do rozbicia, co uniemożliwia wypchnięcie tiouracylu przez uracyl. Nie jest jednak wykluczone, że połączenie to jest nadal dość luźne, że jednakże możliwości rozwojowe roślin ulegają z innych przyczyn wyraźnemu osłabieniu. Przyczyną taką może być np. wyczerpanie się zasobu auksyn (względnie ich prekursora), które nie ulegają odnowieniu, ponieważ rośliny nie kielkują.

W dalszych badaniach chodziło nam o stwierdzenie czy kwas nukleinowy (w stężeniu $1/5\ 000$, $1/10\ 000$ i $1/25\ 000$ nie niweczy działania tiouracylu. Doświadczenia te wypadły negatywnie, co można było z góry przewidzieć, ponieważ drobina kwasu nukleinowego jest zbyt duża, aby mogła ulec w całości włączeniu w nukleoproteidy komórki roślinnej.

Ryc. 4.

Na ryc. 4 widzimy wynik doświadczenia po 10 dniach. W drugim rzędzie widoczne są dwie boczne płytki kontrolne, w których gorczyca rośnie na czystej wodzie destylowanej oraz środkowa zawierająca roztwór $1/25\ 000$ tiouracylu i uracyl w stężeniu $1/5\ 000$. Jak widzimy, wzrost we wszystkich trzech płytkach jest zupełnie identyczny. Płytki natomiast w pierwszym rzędzie zawierają roztwór tiouracylu w stężeniu $1/25\ 000$, przy czym w płytce drugiej mamy nadto heteroauksynę w stężeniu $1/350\ 000\ 000$, a w trzeciej kwas nu-

kleinowy w stężeniu 1/5 000. Jak widać obie te płytki nie różnią się niczym od pierwszej, we wszystkich trzech bowiem wzrost jest zupełnie zahamowany.

Ponieważ tiouracyl stosowany jest w leczeniu nadtarczyczości, sprawdzono jeszcze, czy wyciąg z tarczycy względnie tyroksyna oraz jodek potasu względnie roztwór jodu metalicznego w alkoholu nie wpływają na jego zdolność hamowania wzrostu roślin. Doświadczenia te wykonane z najróżnorodniejszymi rozcieńczeniami wypadły całkowicie negatywnie.

Jak z powyższego wynika, jedynie uracyl wykazuje zdolność przeciwstawiania się hamującemu wpływowi tiouracylu na wzrost roślin, toteż uprawnieni jesteśmy przypuszczać, że mamy tu do czynienia ze swoistym antagonizmem i że tiouracyl jest antymetabolitem dla uracylu, który zaliczyć można do grupy roślinnych metabolitów podstawowych.

W zakończeniu chciałbym jeszcze zaznaczyć, że z doświadczeń powyższych wyciągnąć można być może i pewne wnioski mogące mieć znaczenie praktyczne dla kliniki. Przede wszystkim chodziłoby o stwierdzenie czy wpływ tiouracylu na tarczycę nie jest w pewnym stopniu zależny od wiązania się z jej nukleoproteidami i czy uracyl nie działa i w tym przypadku antagonistycznie. Po wtóre należałoby sprawdzić, czy hamujące działanie tiouracylu (silniejsze niż metylo-tiouracylu) na rozwój białych ciałek krwi nie da się zniweczyć podawaniem uracylu i czy uracyl w pewnych przypadkach agranulocytozy nie okaże się lekiem pobudzającym nowotworzenie się krwinek.

Badania przeprowadzone z mojej inicjatywy w laboratorium firmy Hoffman—La Roche w Bazylei, mające na celu wykazanie ewentualnej roli uracylu w leczeniu granulocytopenii wypadły nieestetycznie. Szczury, u których wywołano leukopenię (1200—5500 białych ciałek w 1 mm³) przez podawanie w ciągu sześciu tygodni 1% sukcynilosulfotiazolu do pokarmu, nie reagowały na podanie na drodze pokarmowej 200 mg. uracylu na kilogram żywej wagi.

Z e s t a w i e n i e:

Hamowanie wzrostu roślin przez tiouracyl daje się znieść jedynie odpowiednimi dawkami uracylu. Tymina, auksyny, kwas nukleinowy, wyciągi z tarczycy, tyroksyna, jod zjonizowany i atomowy okazały się w tym kierunku nieczynne.

PIŚMIENNICTWO.

1. B e r. A. — O wpływie barbituratów na wzrost roślin. Acta Soc. Pol. XX, 1, p. 135, 1950.
2. B e r. A. — O wpływie tiouracylu na wzrost roślin. Acta Soc. Bot. Pol. XX, 1, p. 131, 1950.