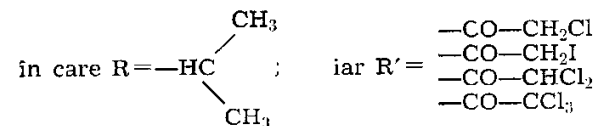
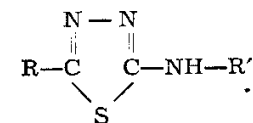


ACȚIUNEA UNOR COMPUȘI NOI DIN SERIA
 TIADIAZOLULUI ASUPRA DIVIZIUNII MITOTICE

de T. SUCIU și O. HENEGARIU

Datele din literatură privind efectul antimitotic provocat de unele substanțe alkilante și derivați haloacetilați ai acestora (1, 3, 4, 7), ne-au condus la efectuarea unui studiu al acțiunii unor noi compuși potențial-citostatici alkilanți din seria 2-amino-5-izopropil-1, 3, 4-tiadiazolului asupra diviziunii mitotice în meristemele radiculare de grâu — *Triticum aestivum*.

MATERIAL ȘI METODA. Substanțele potențial-citostatice noi¹ care au fost luate în studiu, răspund următoarelor formule chimice de structură:



Acțiunea acestor compuși asupra diviziunii mitotice, a fost verificată, folosind ca material biologic meristemele radiculare ale cariopselor germinate de grâu, iar drept tehnică de lucru, metoda de cercetare în soluții cafeinizate (1, 2, 3).

Soluțiile apoase de cercetat în concentrații de 0,05%, 0,025%, 0,012%, în momentul experimentării au fost diluate cu un volum egal de soluție de cafeină M/500 în apă. În studiu, au fost luate cariopse de grâu, care au fost îmbibate 24 de ore în apă, apoi germinate în condiții constante de temperatură și umiditate. În soluțiile de cercetat, puse în capsule Petri, au fost trecute numai cariopsele germinate, a căror radică principală a atins o lungime de circa 1 cm. Capsulele Petri, cu cariopsele germinate, s-au ținut 24 de ore în termostat, la o temperatură de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Pentru examenul microscopic, s-au secționat vîrfurile fie-

¹ Aceste substanțe ne-au fost puse la dispoziție de către Laboratorul de sinteză condus de Dr. F. Găgiu, de la Institutul Oncologic din Cluj.

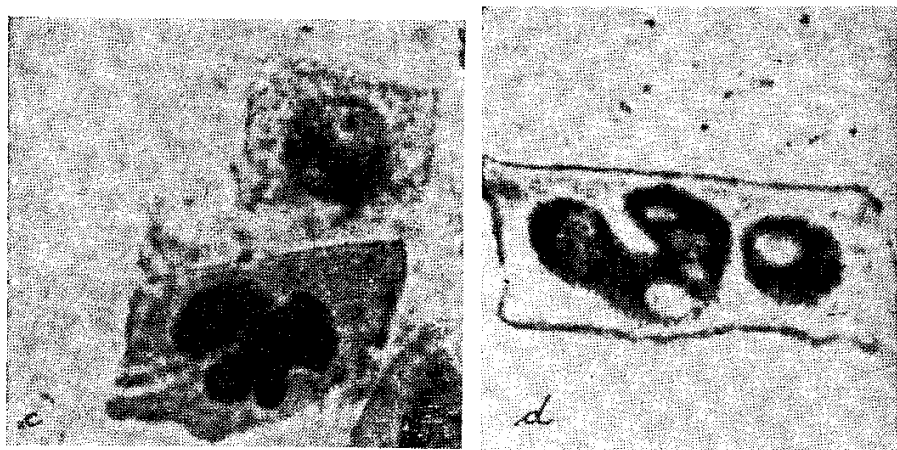


Fig. 1. Fare mitotice alterate din meristemele radiculare de grâu, datorită soluției cofeinizate de 2-tricloracetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol. a; b — anafază și telofază aberante, cu punți și fragmente de cromozomi; c — nucleu de formă aberantă; d — celulă polinucleată.

cărei radicele principale la o distanță de 3 mm. Colorarea preparatelor s-a făcut după metoda rapidă de colorare a cromozomilor cu orceină acetică (5).

Rezultatele obținute sînt prezentate sub formă de tabel, pe baza procentajului figurilor mitotice normale și anormale, din numărul total de celule în diviziune. La produsul 2-tricloracetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol, care s-a dovedit a fi cel mai activ, redăm datele obținute sub formă de grafic, pe baza indicelui mitotic, fiind prezentate totodată și microfotografiile care oglindesc aberațiile cromozomale semnalate.

Rezultatele asupra activității citostatice a compușilor studiați, sînt comparate cu un martor introdus în același volum de soluție apoasă de cafeină M/1000 ca și probele de cercetat și păstrat în aceleași condiții de temperatură și umiditate.

REZULTATE ȘI DISCUȚII. Compușii alkilanți studiați au provocat modificări esențiale în procesul de diviziune mitotică, modificări caracterizate în general, în apariția unor aberații cromozomale, în diferite faze ale cariokinezei. Astfel, în metafază, din cauză că nu se formează fusul nuclear, cromozomii nu se dispun în placa ecuatorială, dînd naștere unei metafaze anormale. În anafază, se observă punți cromozomale, fragmentări de cromozomi, blocuri de cromatină. La fel, apar și în telofază punți și fragmentări de cromozomi cu blocuri de cromatină. În unele cazuri, s-a observat apariția de celule bi și polinucleate, sau celule cu nuclee de forme aberante.

Din analiza datelor experimentale, rezultă că, la nucleul de bază (2-amino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol) numărul figurilor mitotice se modifică în funcție de scăderea concentrației. Astfel, la concentrația maximă (0,05%) numărul de celule normale în diviziune este mai redus, aceasta crescînd însă odată cu concentrația. Aceeași tendință se observă și la figurile mitotice anormale. În comparație cu derivații săi haloacetilați, activitatea sa antimitotică este mult mai redusă.

Prin introducerea în nucleul de bază a radicalului monocloracetil, aspectul microscopic al meristemelor radiculare în diviziune se modifică, indicînd o activitate citostatică apreciabilă. În acest sens, numărul de cineze normale este foarte redus, scăzînd în mod proporțional cu micșorarea concentrației. Numărul cel mai redus de cineze, se află la concentrația de 0,012%. Figuri mitotice modificate apar în metafazele anormale, numeroase, precum și în anafazele anormale. Astfel, 2-(monocloracetilamino)-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol apare ca unul din compușii cei mai activi din această serie (vezi tabelul 1).

În comparație cu ceilalți haloacetil derivați studiați cu ocazia prezentei lucrării, 2-(monoiodacetilamino)-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol prezintă un efect citostatic mai redus, numărul de cineze normale fiind destul de mare față de ceilalți compuși, prezentînd însă și cineze anormale suficient de numeroase.

Compusul 2-(dicloracetilamino)-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol, prezintă un număr crescut de profaze la mie, comparativ cu martorul. Atît numărul de cineze normale, cît și modificate, apar mai numeroase decît la derivatul monocloracetilat.

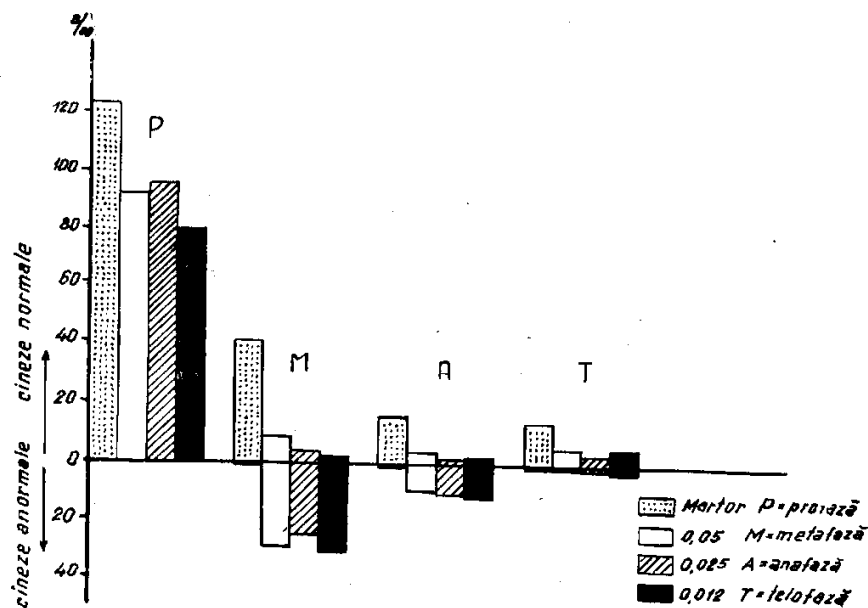


Fig. 2. Schema activității antimitotice la %, a compusului 2-tricloracetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol.

Grefarea grupării tricloracetil, reduce foarte mult numărul de cineze normale, în special în meta și anafază. În aceste faze mitotice, frecvența cinezelor modificate este apreciabilă (fig. 1). Este de remarcant oscilația numărului de cineze în cadrul aceleiași faze în funcție de concentrația soluției cercetate (fig. 2). După datele obținute, activitatea antimitotică este mai mare la concentrația de 0,025%. Aberațiile cromozomale și ale formei nucleului obținute sub influența acestui derivat, sînt prezentate în fotografiile. Compusul 2-(tricloracetilamino)-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol este cel mai activ derivat citostatic din această serie.

Datele citologice obținute, sînt în plină concordanță cu creșterea și lungimea radicelelor cariopselor germinate de grîu, ținute timp de 24 de ore în soluțiile substanțelor studiate la o temperatură de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, comparativ cu martorul corespunzător.

Cu ocazia acestui studiu asupra efectului produs de substanțele noi din seria tiadiazolului asupra diviziunii mitotice în meristemele radiculare de grîu, s-a observat aceleași aberații cromozomale, ca și în cazul acțiunii unor substanțe mutagene, cum ar fi colhicina, asupra celulei în diviziune. Acest lucru ne permite să presupunem că acești compuși alkilanți pot fi utilizați — în concentrații corespunzătoare — în scopul inducerii de mutații. Din literatura de specialitate (3, 4, 6),

Tabela 1

Modificările diviziunii mitotice pe faze, în meristemele radiculare de grîu, sub influența substanțelor întudite, exprimate procentual

Denumirea compusului	Conc. %	Nr. tot. celulele studiate	Celulele div. din nr. total%	Celule în diviziune	Profaza	Metafază		Anafază		Telofază		Celule în div. %	
						Norm.	Mod.	Norm.	Mod.	Norm.	Mod.	Norm.	Mod.
Martor	—	2455	19,4	470	63,6	—	—	8,0	—	6,1	0,4	99,6	0,4
2-monocloracetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol.	0,050	1316	13,0	172	71,6	1,7	14,5	0,6	7,0	4,6	—	74,9	25,1
	0,025	1699	12,7	218	54,0	2,3	22,5	3,7	7,4	10,1	—	75,1	24,9
	0,012	2024	11,1	226	62,6	4,8	15,0	2,2	6,6	8,8	—	68,1	31,9
2-dicloracetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol.	0,050	1427	19,6	279	70,7	6,4	11,8	1,1	4,3	2,1	3,6	80,3	19,7
	0,025	1302	21,6	282	68,1	3,4	15,0	—	5,4	6,1	2,6	77,6	22,4
	0,012	1927	19,5	377	58,2	8,8	15,1	1,8	8,8	4,2	3,1	73,0	27,0
2-tricloracetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol.	0,050	2105	15,1	318	62,3	5,9	17,7	2,8	6,5	3,7	0,9	78,5	21,5
	0,025	1329	13,9	186	69,3	2,6	17,0	1,1	7,9	2,1	0,5	70,1	29,9
	0,012	1294	13,2	171	60,6	1,7	23,2	1,7	8,7	4,1	1,0	78,4	21,6
2-monoidacetilamino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol,	0,050	2541	22,0	521	62,1	8,0	14,1	1,7	5,5	4,4	4,2	76,2	23,8
	0,025	1748	22,0	367	52,9	9,7	22,1	2,7	7,0	3,2	2,4	68,5	31,5
	0,012	1722	21,2	364	57,4	8,8	13,8	3,3	8,4	5,0	3,3	74,5	25,5
-2-amino-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol	0,050	1501	12,4	189	58,5	2,1	23,9	1,0	6,2	6,2	2,1	67,8	32,2
	0,025	1758	18,5	338	50,0	9,0	15,1	9,0	7,3	5,8	3,2	74,4	25,6
	0,012	1660	19,2	320	49,1	11,2	18,6	4,3	11,2	3,7	1,9	68,3	31,7

se desprinde faptul că aproximativ aceleași aberații cromozomale se observă și în cazul testelor pe țesuturi animale canceroase cu intensă activitate proliferativă, în cadrul cercetării activității antimitotice a produșilor alkilanți în general. Cercetările viitoare vor stabili în ce măsură noii compuși studiați de către noi, vor putea fi utilizați ca agenți mutageni sau în terapia tumorilor maligne.

CONCLUZII. Asupra diviziunii mitotice a meristemelor radiculare de grâu, toți compușii de sinteză noi din seria tiadiazolului studiați în prezenta lucrare, indică o activitate antimitotică de diferite intensități, în funcție de structura chimică a derivatului. Această activitate, este similară cu cea produsă de agenții mutageni și constă din: apariția de punți anafazice și telofazice, cromozomi fragmentați, precum și de nuclei de forme aberante sau de celule bi- sau polinucleate.

Compusul cel mai activ din punct de vedere citostatic, s-a dovedit a fi 2-(trichloracetilamino)-5-izopropil-1,3,4-tiadiazolul, urmat de compusul 2-(monocloracetilamino)-5-izopropil-1,3,4-tiadiazol.

BIBLIOGRAFIE

1. CONSTANTINESCU G. D. și col., 1961: C.R. Ac. Sci. (Paris), 253, 176.
2. CONSTANTINESCU G. D. și col., 1961: C.R. Ac. Sci. (Paris), 253, 1.061.
3. CONSTANTINESCU G. D. și col., 1962: Arzneimittel Forsch, 8, 12, 827.
4. HIDEO ENDO și col., 1965: Chem. Abstr., 1, 413.
5. LA COUR L. F., 1941: Steim Tech., 1, 6.
6. MORARU I., ANTOHI ST., 1966: *Introducere în genetica moleculară*, Ed. Medicală, București.
7. TROY W. P. și col., 1956: Chem. Abstr., 50, 6682.

CARIOTIPUL LA *VICIA MICHAXII* Spreng.

de A. LAZĂNYI

Specia este răspândită în Cipru, Asia Mică, Siria, Izrael, Irac, Iran, pînă în Asia Centrală, în Pamir și Altai. Se deosebește de alte specii înrudite mai ales prin semințele relativ mari, oblongi, asemănătoare intrucitva cu semințele de la *Vicia faba* L. (1). Acest caracter, precum și faptul că plantele de *V. michauxii* pot fi aflate printre culturi (1), ne a sugerat ideea să cercetăm din punct de vedere citogenetic legăturile acestei specii cu alte specii înrudite.

În literatură am găsit date cariologice despre *V. michauxii* la DARLINGTON și WYLIE (2) care citează în această privință lucrarea lui COUTINHO, L. De, 1945, *Novos subsidios para a cariologia do genero Vici*, Bol. Soc. Brot. 19: 448—455). După acest autor numărul de cromosomi în celulele somatice de la *V. michauxii* este de $2n=12$. LÖVE și LÖVE (3) nu amintește specia.

Pentru cercetările noastre semințele de *V. michauxii* le-am obținut de la secția de Sistematică și Sortiment a Institutului pentru Cercetarea Plantelor Cultivate al Academiei de Științe Germane (Gatersleben, R.D.G.), sub numărul de sortiment: VIC 644/64, prin amabilitatea lui Doz. Dr. S. Danert și Dr. P. Hanelt.

În afară de stabilirea numărului de cromosomi, noi am avut intenția să studiem și morfologia lor în celulele somatice. În acest scop rădăcini primare de 2—4 cm lungime au fost tratate cu o soluție de colchicină 0,05%, barbotată cu aer timp de 100 minute, apoi fixate în etanol-ac. acetic 3 : 1. După colorare Feulgen, din meristemul activ s-au făcut preparate presate, închise în Euparal. Din mai multe microfotografii despre metafaze colchicinizate s-au stabilit următoarele:

1. — Numărul diploid de cromosomi în celulele meristemului activ al rădăcinilor primare la *Vicia michauxii* Spreng. este de $2n=14$. (Nu cunoaștem proveniența materialului folosit de COUTINHO, nici tehnica prin care a stabilit numărul de cromosomi la această specie, ca fiind $2n=12$).

2. — Morfologia cromosomilor: Cromosomul nr. 1 metacentric, cu satelit; cromosomul nr. 2 acrocentric cu satelit; cromosomul nr. 3 și 4 acrocentric cu brațul scurt mai mic decât la nr. 2; cromosomul nr. 5 și 6 acrocentric, cu brațul scurt mai mic, decât la nr. 3 și 4; cromosomul nr. 7 acrocentric, cu brațul scurt mai mic, decât la nr. 5 și 6. Brațul lung la cromosomii nr. 1, 3, 4, 5, 6 și 7 este asemănător, avind cca. 8—10 microni lungime în starea scurtată din metafaza colchicinizată.