

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

**CITOCININAS. RELACIONES DE
ESTRUCTURA-ACTIVIDAD**

T E S I S

Que para obtener el título de

Q U I M I C O

p r e s e n t a

FCA. LEONORA SANCHEZ Y GARCIA FIGUEROA

329

México, D. F.

Noviembre 1975



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis
ADQ. 1975
FECHA
PROC. H. 312



QUINDIO

Jurado Asignado:

Presidente	Dr. Alfonso Romo de Vivar.
Vocal	Dra. Martha Albores V.
Secretario	Dra. Rocío Pozas H.
1er. Suplente	Dra. Yolanda Caballero.
2do. Suplente	Dr. Guillermo James M.

Sitio donde se desarrolló la monografía

Bibliotecas de la UNAM, Cha
pingo y Syntex.

Sustentante:

Fca. Leonora Sánchez y García
Figueroa.

Asesor del Tema:

Dra. Martha Albores V.

"Aguardad vuestro turno
con paciencia y con fe.
Que hay más estrellas que hombres
y hay alas para Todos."

León Felipe.

A MIS PADRES.

A MIS HERMANOS.

A MIS ABUELITOS.

A MIS AMIGOS.

Agradezco infinitamente a
la Dra. Martha Albores Ve
lazco, sus desinteresados
consejos y su valiosa ayuu
da gracias a los cuales -
se hizo posible la elabo-
ración de este trabajo.

CONTENIDO.

	Pag.
INTRODUCCION.	
I GENERALIDADES.	1
II CITOCININAS Y ACTIVIDAD CITOCINETICA.	
1 CINETINA.	6
2 ACT. CITOCINETICA.	8
3 CITOCININAS NATURALES.	14
4 METODOS DE EXTRACCION.	21
5 CITOCININAS SINTETICAS.	23
III RELACIONES DE ESTRUCTURA-ACTIVIDAD.	
1 METODOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD CITOCINETICA.	27
2 RELACIONES ESTRUCTURA-ACTIVIDAD DE PURINAS.	32
3 RELACIONES ESTRUCTURA-ACTIVIDAD EN UREAS.	62
4 RELACIONES ESTRUCTURA-ACTIVIDAD EN LAS UREIDOPURINAS.	71
5 COMPARACION DE LAS RELACIONES ESTRUC TURA-ACTIVIDAD EN PURINAS, UREAS Y - UREIDOPURINAS.	73
IV BIBLIOGRAFIA.	107

INTRODUCCION.

En los vegetales, como en los animales, existen -- sustancias que en pequeñas cantidades, promueven, inhiben o modifican algunos procesos fisiológicos; en condiciones normales estas sustancias se producen en ciertos tejidos de las plantas y pueden ejercer efectos fisiológicos en lugares alejados al de su síntesis, por lo que se les ha considerado como fitohormonas.

En años recientes se ha esclarecido que el crecimiento de las plantas está controlado por varios tipos de hormonas, específicamente por auxinas, citocininas, gibberelinas y etileno y que se modifica después por algunos inhibidores naturales, como fenoles, flavonoles y ácido absícico.

Debido al gran interés tanto científico como agrícola de los reguladores del crecimiento de las plantas, la literatura al respecto es muy abundante, y se hace necesaria una recopilación de la información hasta ahora muy dispersa.

Ya que el trabajo de síntesis de citocininas que se ha hecho es menos extenso que el que se ha realizado -- con auxinas y es no menos importante, se ha recopilado en-

este trabajo la información existente hasta la fecha sobre estas fitohormonas y se intenta que sea de utilidad en las investigaciones posteriores, especialmente en el aspecto - de síntesis de citocininas.

CAPITULO I

GENERALIDADES.

Dos procesos contribuyen al crecimiento de las --- plantas: la división y el alargamiento celular. En la ma-- yor parte de los órganos ambos procesos están presentes en regiones definidas. Una región de división celular recibe el nombre de meristemo, mientras que una región de alarga-- miento celular se conoce como zona de elongación.

Los meristemos poseen una segunda función además - de la producción de células nuevas; esta función es la de proporcionar su forma al órgano. Si las células se dividen sin regulación, se forma un callo, de aquí que en un meris-- temo la división está regulada de manera que la forma y el funcionamiento correcto del órgano están aseguradas.

Si hacemos un corte transversal en la raíz (Fig. - 1), primero encontramos la cápsula de la raíz, luego al me-- ristemo el cual proporciona la forma y las células nuevas-- a la raíz luego viene la zona de elongación en la cual es-- tas nuevas células aumentan su tamaño. Finalmente las célu-- las se diferencian, cesa la elongación y se unen a las célu-- las maduras, las cuales forman el volumen de la raíz. El tallo tiene un arreglo similar, con la diferencia de que - tiene además un meristemo subapical (no presente en todos-- los tallos) el meristemo apical determina la forma del ta--

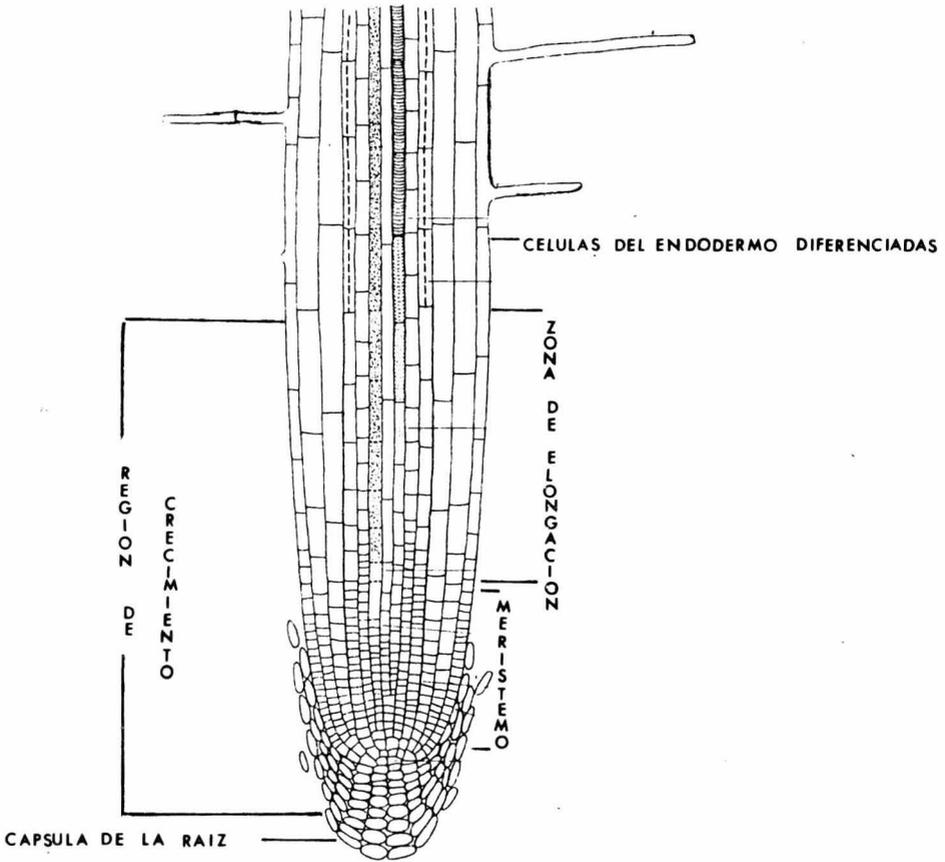


Fig. 1. Diagrama simplificado de la región de crecimiento de una raíz en un corte transversal.

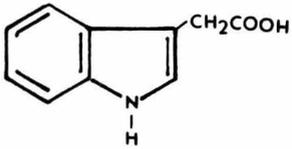
llo y proporciona algunas células nuevas; el meristemo subapical produce gran número de células nuevas para el tallo en desarrollo. La longitud del tallo está determinada por la actividad de este meristemo subapical; cuando este meristemo no es normalmente activo, se forma una planta enana. Las células producidas por estos dos meristemos, se alargan y finalmente se diferencian.

La acción de las fitohormonas está localizada principalmente en la región meristemática:

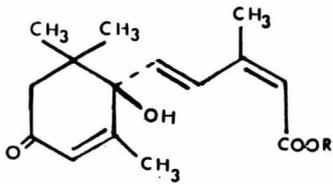
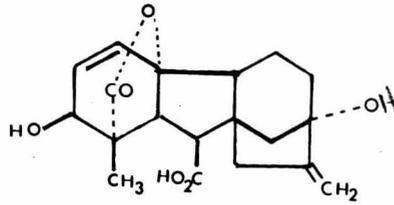
Las auxinas cuyo representante natural es el ácido indol acético, inducen la elongación celular en los renuevos (1) y mediante este efecto promueven el crecimiento.

Las giberelinas estimulan la división celular, la elongación celular o ambas y sus efectos varían de órgano a órgano y de planta a planta (2) pero su efecto más pronunciado es su habilidad para aumentar el crecimiento del tallo; este efecto sirvió para aislar por primera vez el ácido giberélico.

Las citocininas promueven la división celular en células de origen vegetal y producen muchos otros efectos-



Acido indol acético

Acido giberélico
GA₃

Acido absícico

Etileno

 $\text{CH}_2=\text{CH}_2$

Fig. 2. Fito-hormonas más importantes.

de los cuales se hablará detalladamente.

Las auxinas exógenas estimulan a los tejidos vegetales para que produzcan etileno (3), que ha sido considerado también como fitohormona; es posible que otros reguladores de crecimiento actúen en las plantas teniendo al etileno como intermediario.

Los inhibidores del crecimiento inhiben o retardan un proceso físico o bioquímico en las plantas (4) y pueden ejercer diferentes acciones; por ejemplo, pueden inhibir - la producción de auxinas o de giberelinas (5). El ácido abscísico o dormina es uno de los inhibidores más importantes y más ampliamente distribuidos en las plantas (6).

CAPITULO II

CITOCININAS Y ACTIVIDAD CITOCINETICA.

Las citocininas comprenden un grupo importante de reguladores de crecimiento y son responsables de la iniciación de la división celular (7). La primera citocinina descrita fué la cinetina (6-furfurilamino purina), un producto de degradación de una preparación de ácidos nucleicos - descubierta durante estudios de cultivos de tejidos. La -- primera citocinina natural descubierta fué la zeatina (8)- pero se han aislado después otras muchas sustancias relacionadas de una gran variedad de extractos y jugos vegetales.

1 Cinetina.

Aunque ya en 1892, Wiesner (9) sugirió la existencia de una substancia promotora de la división celular y - en 1900 Haberlandt (10) proporcionó evidencias experimentales de la existencia de esta substancia promoviendo la división celular en tubérculos de papa mediante extractos -- del tejido vascular y de células dañadas; no fué sino hasta 1941 en la Universidad de Wisconsin que con el estudio de cultivo de tejidos se inició una serie de investigaciones que culminaron en 1950 con el descubrimiento de la cinetina (I).

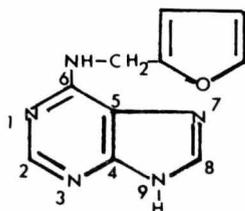
En 1941, J. Van Oberveek (11) informó que el agua-de coco contiene un factor que estimula el crecimiento de-embriones en cultivo de tejidos, pero los intentos por aislar esta substancia fueron infructuosos (12). Se observó -- posteriormente que la levadura de cerveza (13) promueve -- también la división celular y se logró extraer con muy bajo rendimiento la substancia activa que tenía propiedades-de purina.

Con estos antecedentes se buscaron nuevas fuentes-de purinas y eventualmente una muestra de DNA, tuvo una actividad extraordinaria (14) y posteriormente Miller (15),- por calentamiento de DNA, logró extraer la substancia activa: cristales de fórmula empírica $C_{10}H_9N_5O$, anfótero con - pKa de 4 y 10, absorción en el U.V. de 268 nm e hidrolizables mediante ácidos. La hidrólisis del producto produjo - adenina y ácido levulínico que se supuso provenía de la -- deshidratación de una pentosa.

El IR del producto original dió una banda a 1250 cm^{-1} indicando unión éter, por lo que se propuso un anillo de furano. Ya que el producto original no tenía C-metilo,- y no absorbía hidrógeno ni reaccionaba con anhídrido maleico, se pensó en un anillo furanico con un grupo amino en-posición alfa, que estabiliza a los anillos furanicos ---

grandemente.

La precipitación del producto con nitrato de plata y la no acetilación del grupo amino en posición 6, llevaron a la conclusión de que la estructura de la cinetina -- era la que se muestra I. Esta estructura propuesta por --- Miller (13), fué comprobada por síntesis en 1955.



2 Actividad citocinética.

Se piensa que las citocininas naturales se sintetizan en las raíces y se mueven a las otras partes de la --- planta a través de la corriente de la transpiración (16);- la multiplicidad de sus efectos biológicos, nos han llevado a clasificarlos de una manera semejante a como lo hace Fox (17), bajo los siguientes grupos:

1) División celular.

- 2) Alargamiento celular.
 - 3) Inducción de la formación de órganos.
 - 4) Ruptura de la dormancia.
 - 5) Pérdida de la dominancia apical.
 - 6) Aumento en longevidad de tejidos y órganos.
-
- 1) División celular.

En estudios detallados de la mitosis, Das y Gutman (18, 19) han encontrado que la cinetina en combinación con el ácido indol acético induce la mitosis seguida por la citocinesis. Se ha informado el aumento de la división celular en varios microorganismos (20, 21, 22) y en animales superiores (23). Así mediante la división celular, las citocininas estimulan el crecimiento de las hojas (24) y aumentan el crecimiento del tallo en las plantas.

- 2) Alargamiento celular.

Poco después de las primeras observaciones del efecto de la cinetina en la división celular, Miller (13), Kuraishi (25) y Scott (26, 27) informaron que este compuesto y algunos de sus análogos con actividad en la división celular, producían alargamiento celular en hojas etioladas, provocando así un aumento en el tamaño de las hojas. Este

efecto no se puede aumentar con auxinas.

3) Inducción de la formación de órganos.

En condiciones apropiadas, ciertas variedades de - cultivos de tejidos responden a las citocininas con la formación de órganos. Este fenómeno fué observado primeramente por Skoog (28) y Miller (29) en estudios de antagonismo en cultivos de tallo de tabaco.

En el sistema del callo de tabaco (30), en un ni-- vel en que la cinetina y el ácido indol acético se encuentran en una proporción determinada, el tejido crece como - un callo amorfo no diferenciado. Aumentando la proporción-- de cinetina con respecto a la auxina se forman brotes, los cuales pueden transformarse en tallos y finalmente en plantas completas bajo las condiciones adecuadas. En el caso - contrario en el que disminuye la proporción de cinetina -- con respecto a la auxina, aparecen las raíces. Este ejem-- plo de control exógeno de diferenciación tiene una considerable importancia en el campo de la morfogénesis y su control en las plantas.

En casi todos los casos reportados, la aplicación-- de citocinina exógena es mortal para la iniciación y la --

elongación de los ejes principales de la raíz (14, 31, 32, 33, 34); otro aspecto interesante es que en ciertos casos las citocininas estimulan la formación de raíces laterales a la misma concentración a la que inhiben el crecimiento de los ejes principales (31, 35), aunque inhiben la elongación de las raíces primarias promueven un aumento en su diámetro (30) y también inhiben la formación de raíces adventicias (36). Se ha encontrado que las citocininas, estimulan la formación de los órganos femeninos en algunas especies de plantas (37, 151).

4) Ruptura de la dormancia.

En las semillas de lechuga, en el clavel blanco y en el pasto (38), las citocininas pueden sustituir el requerimiento luminoso necesario para romper la dormancia (39, 40, 41, 42). Asimismo la germinación del gladiolo se puede promover mediante almacenamiento en frío y por tratamiento con benciladenina (43) y la cinetina en combinación con luz roja invierte el efecto de ciertos inhibidores de la germinación de semillas como la cumarina y la xantatina (44). El mismo efecto fué observado por Haber (45, 46) en semillas de lechuga irradiadas con rayos gamma en las que la mitosis se retrasó más que la expansión celular, en este caso fué posible mostrar que la germinación inducida --

por cinetina va precedida por actividad mitótica.

La regulación de la germinación por las citocininas puede tener importantes implicaciones ecológicas (47); por ejemplo, las semillas de la planta *Striga* Asiática germinan en respuesta a las secreciones de la planta que las hospeda o a la cinetina (48) como se ha demostrado la presencia de sustancias con actividad citocinética en exudados de raíz (49) parece probable la intervención de las citocininas en la germinación de semillas bajo condiciones naturales. Además las citocininas rompen la dormancia en otros órganos de plantas incluyendo los brotes en reposo de *Hydrocharis* (50), *Vitis vinifera* (51), café (53), abedul y sicomoro (52).

5) Pérdida de la dominancia apical.

Las citocininas contrarrestan la dominancia usual del brote apical (54, 55, 56, 151); la causa de este efecto no es clara, aparentemente está relacionada con la acción de las citocininas en la diferenciación del tejido vascular, la interacción entre citocininas y otros reguladores del crecimiento en este sistema no se conocen.

6) Aumento en longevidad de tejidos y órganos.

Alteraciones en el metabolismo, la actividad enzimática, el contenido de ácidos nucleicos y la movilización de materiales orgánicos e inorgánicos producidos por citocininas, modifican la longevidad de tejidos y órganos.

En 1957 Richmond (57), demostró que la cinetina retarda la senectud disminuyendo la degradación de proteínas y clorofila. Otros estudios (58) demuestran que las citocininas promueven además la síntesis de proteínas (59, 69, - 151), de ácidos nucleicos (60), tiamina, lípidos, almidón- y clorofila (61, 62, 57, 63, 150).

Se ha demostrado también que las citocininas aumentan la respiración (64), los azúcares reductores en las hojas (65, 66) y provocan un aumento en la actividad de algunas enzimas como la ribonucleasa (67) y las enzimas que catalizan la carboxilación durante la fotosíntesis (68).

El transporte de varias sustancias se ve afectado por citocininas: se ha encontrado un paralelismo entre la transpiración estimulada por citocininas y la división celular inducida (70, 71, 72, 73); aparentemente la cinetina no se degrada en las hojas y cuando se aplica en un área - difícilmente se mueve de ahí (74), en este lugar se concentran los aminoácidos (75), probablemente esto está relaciona

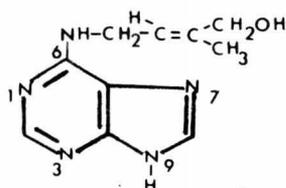
nado con la capacidad de células jóvenes, tejidos de crecimiento y órganos de almacenamiento para retener sustancias solubles y de bajo peso molecular en estudios relacionados pueden revisarse en las referencias (58, 61, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 226).

3 Citocininas naturales.

Inmediatamente después del descubrimiento de la cinetina, varios investigadores empezaron a buscar las sustancias responsables de la división celular en los vegetales.

Goldacre (88), hizo extractos de manzanas dos semanas después de la polinización en un tiempo en el que el crecimiento era por multiplicación celular y cuando la concentración de factores de crecimiento debía ser óptima, se reveló la presencia de un factor de crecimiento, el cual no pudo caracterizarse químicamente.

En 1963, Letham (8) aisló una citocinina de las mazorcas del maíz, a la que le dió el nombre de zeatina. Se propuso la estructura II (89), que fué confirmada posteriormente por Miller (90, 91).



II

La zeatina se ha aislado de espinacas, chícharos - y ciruelas (92), de semillas de calabaza (93), de la savia de girasoles (94), de las hojas y de la savia de *Heliantus annuus* (95, 96).

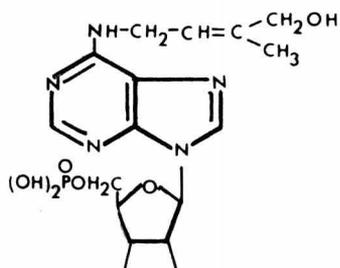
Nitsch (97), aisló de la savia de uvas una citocinina que pareció ser un nucleótido de la zeatina, esto fué confirmado por Skene (98) y sugirió que esta puede ser la forma soluble en agua en la cual circulan todas las citocininas.

Tanto el nucleósido como el nucleótido de la zeatina se encuentran ampliamente distribuidos en hongos (99) y plantas verdes (100). La ribosa de la zeatina por ejemplo, está presente en la leche de coco (101), como componente - del RNAT, en savia y en hojas de *Heliantus* (95), se ha aislado como el factor de división celular más abundante en - tumores de *Vinca rosea* (102, 103); en savia de sicomoro --

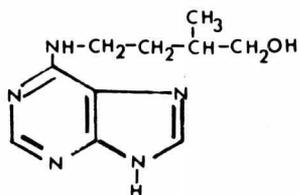
(104) y también se ha encontrado como producto metabólico de *Rhizopogon roseolus* (105, 92).

El fosfato de ribosa de la zeatina (III) se ha aislado también de la leche de coco (106, 107, 108), de semillas de sandía (109) y del maíz (96).

En 1967, Koshimizu (110) aisló la (-)-dihidrozeatina (IV) y la ribosa correspondiente (108), a partir de se-



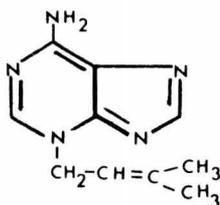
millas inmaduras de *Lupinus luteus*.



Cavé en 1959 (111), reportó el aislamiento de togolamina, (V) junto con dos alcaloides esteroidales de Holarrhena floribunda, colectada en Togo (Africa).

Monseur y Adriaens (112), publicaron el aislamiento de chidlovina (V) y un terpeno a partir de Chidlowia Sanguinea.

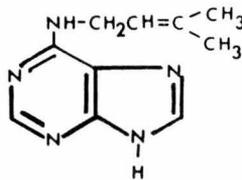
Haciendo uso del p.f mixto, así como de otros datos físicos, se encontró que la togolamina y la chidlovina eran la misma substancia y que además eran idénticas a la triacantina (V), la cual fué aislada anteriormente por Belikov (113) de Gleditsea Triacantos. Leonard (115) confirmó su estructura; este compuesto se ha aislado también de las hojas de acacia (114).



V

El Corinebacterium fascians (56), es una bacteria que invade las plantas y produce efectos citocinéticos co-

mo brotes laterales en gran cantidad. Este fenómeno puede imitarse con aplicaciones de cinetina sola o en combinación con auxinas; estos hechos condujeron al aislamiento e identificación (117) de 6-(δ,δ -dimetilalilamino) purina -- (VI), cuya existencia natural es de especial interés en -- vista de su relación con la triacantina, su isómero en 3, -- que es abundante en plantas superiores; este compuesto es-

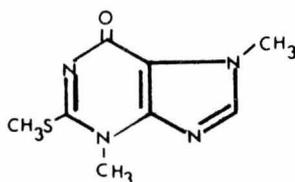


VI

tá presente en el RNA de muchos organismos diferentes --- (118) como en el pollo, el ternero y el hombre. Su nombre más popular es 2iP, se ha aislado como su ribonucleósido -- de la serina (119), y de la tirosina (120) del RNAt, de E. coli (124), de la levadura y de los hidrolizados de levadu -- ra (92, 121, 122, 123). En 1973, Pedersen (125), lo identi -- ficó en el agua de mar haciendo uso de la cromatografía de gases y de la espectroscopía de masas.

El factor de división celular que se aisló de célu

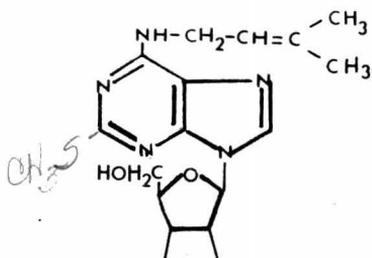
las de Vinca rosea (126), es un derivado de la purina que no esta sustituido en la posición 6 por el grupo amino, si no que en esta posición presenta un oxígeno. Inicialmente Wood, pensó que era una hexosa de la nicotinamida que contenía azufre (127, 128), actualmente sugiere que su estructura es 3,7-dimetil-2-metiltio-6-purinona, unido a una glucosa (129) (VII); esta substancia tiene un papel importante en el crecimiento de células de "crown gall" (130), las mantiene dividiéndose persistentemente; las células normales no sintetizan esta substancia y poseen un requerimiento exógeno absoluto para purinas 6-sustituidas (129). --- Miller (102, 103), sugiere actualmente que este compuesto no es la purinona sino la ribosa de la zeatina.



VII

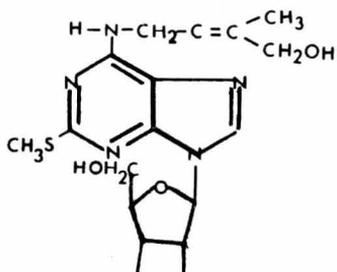
Del RNAt de la E. coli se aislaron e identificaron como 6-(3-metil-2-butenilamino)-2-metiltio-9-B-D-ribofuranosil purina (VIII), se ha probado que junto con el nucleósid^o de la 6-(3,3'-dimetilalililamino) purina es responsable-

de la actividad citocinética encontrada en *E. coli* (124).



VIII

Junto con las citocininas anteriormente menciona--
das, del RNAt se ha aislado la 6-(4-hidroxi-3-metil-2-bute
nilamino)-2-metiltio-9-B-D-ribofuranosil purina (133) (IX).



IX

La 6-metil y la 6,6-dimetilaminopurinas, se han --
aislado del germen de trigo (134) y posteriormente de RNA-
soluble de *E. coli* (135), ambas tienen poca actividad cito
cinética (136).

Las citocininas hasta aquí mencionadas tienen estructuras derivadas de purinas, sin embargo la marcada habilidad del agua de coco para producir la división celular rápida y desordenada, atrajo la atención de los investigadores hacia 1952 (137) y durante el mismo año se aisló de dicho fluido una substancia que fué identificada posteriormente como difenil urea (138), la cual en combinación con un hidrolizado de caseína promueve la división celular de manera similar al agua de coco entera pero en menor proporción, fué esta la primera substancia no purínica con actividad citocinética; actualmente el aislamiento de citocininas naturales continúa (102).

4 Métodos de extracción y purificación.

La separación e identificación preliminar de las bases citocinéticas y sus ribosas se ha llevado a cabo por cromatografía de gases (139, 140, 141) método que se ha usado para determinar cuali y cuantitativamente la cantidad de citocininas presentes en los tejidos.

La extracción de las citocininas de las plantas, generalmente se lleva a cabo con metanol, etanol o acetona (98) (70-95%). El tejido se macera con el disolvente dejándolo extraer por un tiempo (102) y se centrifuga. El disol

vente se evapora a sequedad en el vacío a 40 grados y el residuo se resuspende en agua para experimentar o se acidula y se extrae con acetato de etilo o éter para remover materiales solubles (como inhibidores y auxinas) (91, 110, -145), la fracción acuosa se lleva a un pH neutro y se reextrae con butanol (98, 146) para después evaporar a sequedad antes de hacer la solución final del experimento (148, 149).

La purificación puede llevarse a cabo con resinas de intercambio iónico (56, 146, 147) que se eluyen generalmente con una solución 2N de amoníaco, se evapora a sequedad a 35 grados.

La separación de componentes del extracto final purificado es por métodos cromatográficos, usualmente en papel o en placa fina (sílica o alúmina), estas separaciones se siguen normalmente por bioensayos de las bandas del cromatograma para identificar materiales activos por medio de los métodos descritos anteriormente. El siguiente paso lógico en la identificación es la espectrometría de masas -- (104, 142, 143, 144).

5 Citocininas sintéticas.

Poco después del descubrimiento de la cinetina, varios grupos de investigadores sintetizaron un gran número de compuestos análogos y probaron su actividad citocinética, en un intento por dilucidar que partes de la moléculaeran determinantes de la actividad. Muchos de estos estudios tuvieron en un principio la finalidad de encontrar un antimetabolito de las citocininas que pudiera funcionar en problemas específicos de cáncer. Como resultado de estos trabajos de síntesis se han encontrado innumerables compuuestos con propiedades de inducir la división celular, esta información se analizará en el presente trabajo en el capítulo de relaciones estructura-actividad.

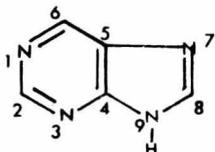
CAPITULO III

RELACIONES DE ESTRUCTURA-ACTIVIDAD.

Muy poco después de iniciado el trabajo sintético-para determinar las características de la molécula necesarias para la actividad promotora de la división celular; - se llegó a la conclusión de que la cinetina y las citocininas naturales no eran las únicas moléculas con actividad.- En general se demostró que la cadena lateral de la cinetina podía ser reemplazada con una gran variedad de sustituyentes y esto conservaba o aumentaba su actividad; asimismo se demostró que la posición de los sustituyentes en el anillo y que las alteraciones en el nucleo de adenina, generalmente disminuían la actividad. Con excepción de algunos casos notables, como el de difenil urea, todos los compuestos promotores de la división celular tienen anillo de purina.

En este trabajo se analizarán por lo tanto, las relaciones entre estructura y actividad de purinas, ureas y ureidopurinas sustituidas. Se ha revisado la información - existente que se resume en las tablas y que se discute brevemente o agrupando las modificaciones realizadas de la siguiente manera:

A) Purinas



1.- Variación de la cadena lateral.

- a) En su longitud
- b) En dobles enlaces
- c) Introducción de grupos polares
- d) Variación en la configuración de la cadena-lateral
- e) Sustituyentes cíclicos
- f) Heteroátomos en los grupos sustituyentes

2.- Eliminación del nitrógeno de la posición 6.

3.- Variación de los sustituyentes en el anillo de purina.

- a) Adeninas monosustituidas

- b) Adeninas disustituidas
- c) Adeninas trisustituidas

4.- Modificaciones al anillo de purina.

B) Ureas

Considerando la fórmula general $R-NH-CO-NH-R'$ se hicieron las siguientes variaciones:

- 1.- Variación del puente $-NH-CX-NH-$
- 2.- Variaciones en el sustituyente R cuando R' fué H o fenilo.
- 3.- Ureas tri- y tetra- sustituidas.
- 4.- Variación del sustituyente en el anillo bencénico cuando R' fué H o fenilo.
- 5.- Modificaciones a los dos fenilos en ureas di--sustituidas.
- 6.- Efecto de los sustituyentes heterocíclicos.

7.- Otras variantes

C) Ureidopurinas

1 Métodos para determinar la actividad citocinética.

Basándose en los efectos que producen las citocininas en las plantas, se han ideado una serie de bioensayos por medio de los cuales se puede detectar y medir la actividad citocinética.

a) Crecimiento del tejido calloso.

El experimento más ampliamente usado, se basa en la producción de células de tejidos homogéneos como el parénquima del tallo de tabaco (13). Miller usó piezas de tejido calloso, fabricadas en un cultivo de los fragmentos estériles del tallo, estos fragmentos crecieron en un medio compuesto de sales minerales balanceadas, vitaminas, auxinas, glicina, sucrosa (como fuente de energía y de carbón) y agar para solidificar el medio de cultivo, al cual se añade la citocinina que va a ser probada; la aparición de células nuevas visibles microscópicamente después de dos semanas indican actividad citocinética; el crecimiento

máximo se alcanza en 3 o 4 semanas, este aumento en volumen es lo que nos sirve para medir la actividad. El crecimiento del callo es mínimo en ausencia de citocininas.

A una concentración de 1-15 microgramos/litro, la respuesta a la citocinina está relacionada directamente -- con su concentración; a concentraciones más elevadas, el crecimiento va disminuyendo progresivamente. Este experimento es muy sensible y detecta citocininas naturales a -- concentraciones de $5 \times 10^{-11} \text{M}$ (171).

Se pueden usar otras fuentes, como el callo derivado del cotiledón del frijol de soya (103, 163); el tejido del floema de zanahoria (164, 165) y el cotiledón del pepino (166).

b) Formación de brotes.

Los experimentos que dependen del crecimiento del callo son muy lentos, por esta razón hay pérdida de material activo durante el período de cultivo. Un experimento rápido, está basado en la formación de brotes en el prototoma del musgo (167, 168).

c) Expansión de hojas.

Para este experimento se usan hojas de rábano que crecen en la oscuridad (etioldadas) y con temperatura y humedad controladas; las hojas se cortan en discos de 5 mm - de diámetro y las muestras se flotan en una solución que contiene citocininas durante 1-3 días a 25 grados en la -- luz. En ausencia de citocininas hay poca expansión de la - hoja; la actividad citocinética se mide por el aumento en el diámetro o por aumento en el peso de la hoja (169).

d) Retraso de la senectud.

Las citocininas retrasan la desaparición de la clorofila en hojas viejas de ciertas especies si se aplican a la superficie de la hoja en solución (57); esta propiedad - fué utilizada pronto como bioensayo para detectar citocininas (170).

En la prueba original, se almacenaron hojas en condiciones húmedas en la oscuridad hasta que comenzaron a - amarillarse; se cortaron en discos y se pusieron en papel-filtro húmedo, unas con citocininas y otras sin ellas, en la oscuridad durante 48 horas. Se extrajeron las clorofilas con un solvente apropiado (etanol 80%) y se estimó la densidad óptica del extracto a 665 nm (154). Existe una relación lineal entre la retención de clorofila y el logarito

mo de las concentraciones de las citocininas entre $.5 \mu\text{M}$ a $50 \mu\text{M}$. Para este tipo de bioensayo se han usado segmentos - de hojas de cebada (49); hojas de frijol y avena (156); de tabaco y de rábano (147, 157) y de trigo (158).

e) Síntesis de betacianina.

Ciertas especies del género *Amarantus*, producen la betacianina que es un pigmento rojo que se forma solamente en la luz. En la obscuridad, las citocininas promueven su síntesis, especialmente si se proporciona tirosina en el - sustrato (159). Esta respuesta ha dado las bases para un - bioensayo sensible a las citocininas usando *Amarantus caudatus* (160, 161, 162). Su sensibilidad alcanza a concentraciones de $3 \times 10^{-7} \text{M}$ y es altamente específica a las citocininas.

f) Prueba de coleoptilo.

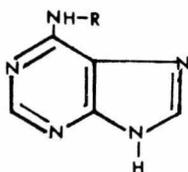
Fawcett (158), utilizó este bioensayo para determinar la actividad citocinética. En una caja con humedad y - temperatura controladas, en la obscuridad y durante 24 ho- ras puso a germinar semillas de trigo. Ayudándose del mi- croscopio cortó coleoptilos de tamaño uniforme y midió sus longitudes, se trataron con la substancia a probar durante

24 horas a 26 grados en la obscuridad y se midió su longitud nuevamente. La prueba del coleoptilo de trigo depende enteramente del alargamiento celular que sufre cuando se trata con citocininas (153).

g) Aumento de la transpiración.

Luke (70), encontró una similitud entre la transpiración estimulada por citocininas y la división celular. Cuando se desea conocer la cantidad de material de prueba absorbido se tratan las hojas en tubos de centrífuga calibrados con diferentes concentraciones del compuesto a ser probado; se transfieren las hojas a tubos de centrífuga calibrados que contienen agua destilada, en condiciones de luz y temperatura controladas; la diferencia entre la cantidad de agua perdida por las hojas tratadas y las no tratadas nos dá una medida de la transpiración. El tiempo óptimo del experimento es de 48 horas. En la prueba de la transpiración el rango efectivo para la cinetina es de $0.005 \mu\text{g/ml}$. La cantidad de agua transpirada es aproximadamente 4 veces mayor en las hojas tratadas que en las no tratadas (71). Esta prueba es más sensible que la de la retención de clorofila (152), pero es menos sensible que la del floema de zanahoria.

2 Relaciones estructura-actividad de purinas.

1.- Variación de la cadena lateral. (Ver Tabla -
No. 1).

X

a) En su longitud.

La adenina ($R=H$), es un compuesto que presenta baja actividad citocinética (64, 28), que aumenta cuando la adenina se ha esterilizado junto con el medio en el autoclave; en cambio cuando se esteriliza por filtración en frío esta actividad no aumenta, de aquí que se ha pensado que la actividad aparente de la adenina se debe a los derivados sustituidos en la posición N^6 que se forman dentro del tejido vegetal, con reservas de adenina exógena (172, 176).

En general la actividad de los derivados N^6 alquí-

licos de la adenina varía con la longitud del grupo alquí-lico (172, 178). La influencia de la longitud de la cadena se relaciona aparentemente a las propiedades físicas de la molécula facilitando o haciendo más difícil el acceso a -- los sitios reactivos de las células (172), estas propieda-des se modifican marcadamente con la presencia de grupos -polares (173).

Se ha demostrado en el callo del tabaco que la ac-tividad de la adenina aumenta con el número de átomos de -carbono de la cadena lateral hasta un punto óptimo para la 6-pentilaminopurina ($R=C_5H_{11}$) (173) disminuyendo después a un nivel escasamente detectable para la 6-decilaminopurina ($R=C_{10}H_{21}$) (172, 174) (Ver tabla 1).

En la prueba de Kuraishi de discos de hojas de rá-bano (175) en cambio, la alquilaminopurina más activa fué-la de 6 carbonos siguiéndole en actividad la de 5 y la de-4.

b) Dobles enlaces.

La introducción de dobles enlaces en la cadena la-teral también modifica la actividad (177), probablemente -debido a alteraciones en la estereoquímica de la molécula-

(tabla 1), así en comparaciones de 6-isoamil purina con --- 6-(δ,δ -dimetilalilamino) purina y otros pares de compues-- tos relacionados estructuralmente en el experimento del ca-- llo de tabaco, se encontró que un doble enlace en la cade-- na lateral aumenta mucho la actividad. Aunque entre la 6-- propil y la 6-alil aminopurina no hubo diferencia aprecia-- ble (172).

La 6-butilaminopurina es más activa que la 6-croti laminopurina, esto hace pensar a los autores que la longi-- tud de la cadena lateral es más importante para la respuesa biológica que el grado de saturación (178).

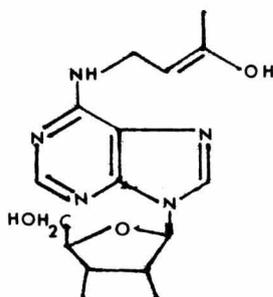
En un estudio sobre la actividad de los isómeros - cis y trans de nucleósido de la zeatina (179), Hall encontró que el compuesto cis fué menos activo que su isómero - en trans, este hecho fué de interés porque la consecuencia más obvia del cambio en la configuración geométrica es una posible distorción de la conformación en la cadena late--- ral.

Es de particular interés que en la 6-(3-cloro-2-bu tenilamino) purina y en sus derivados 9-B-ribosilo, el isó mero en trans tiene el triple de la actividad del isómero-- en cis. Se ha demostrado que el cloro proporciona una in--

terferencia estérica menor que un metilo y por tanto, debe alterar menos la conformación de la cadena en los compuestos con la configuración trans que en los compuestos cis.- La actividad de los compuestos trans es por lo tanto mayor (179).

Similarmente el grupo metilo en el nucleósido de la zeatina ofrece una interferencia estérica menor con el metileno alfa al nitrógeno que la que proporciona el $\text{---CH}_2\text{OH}$ en el isómero cis.

Probablemente los requerimientos estéricos para la actividad son determinantes como se deduce de los datos anteriores (Ver tabla 1).



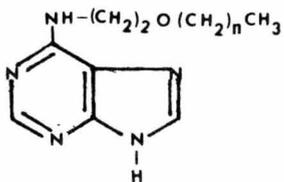
XI

c) Introducción de grupos polares.

La ausencia de actividad citocinética de la 6-ben-

zoil, la 6-furoil y la 6-succinilaminopurinas, llevó a algunos investigadores (180) a pensar que la mera presencia de grupos polares en la cadena lateral eliminaría la actividad, sin embargo se ha demostrado que un grupo hidroxilo como el de la zeatina, mejora la actividad de la 6-(γ,γ -dimetilalilamino) purina, aunque dos grupos hidroxilo como en 6-(2,3-dihidroxi-3-metilbutilamino) purina reducen mucho la actividad (172) (tabla 1).

Se han hecho estudios sobre las relaciones de estructura actividad en las ω -hidroxipolimetileno purinas (158) y se ha encontrado que el orden de actividad de las alcoxilquilaminopurinas en la prueba del coleoptilo de trigo, fué $C_4 > C_5 > C_6$ (153).



XIII

Si tomamos la actividad de la cinetina como estándar, las series alcoxilquilaminopurinas fueron más activas que las alquil y alcohol aminopurinas en las pruebas -

de expansión celular y la actividad disminuyó gradualmente conforme la cadena se hizo más corta.

En pruebas de senectud de hoja de trigo en las alcanol aminopurinas, la actividad máxima fué para la cadena con cinco carbonos, idéntica a la de la alcoxialquilamino-purina de 5 carbonos, estos resultados son similares a los de la prueba del coleoptilo. Esto es sorprendente cuando - consideramos la diferencia fundamental en el proceso fisiológico que involucran las dos pruebas. La prueba del coleoptilo está basada esencialmente en la expansión celular; -- mientras que la prueba de la senectud de la hoja depende - de la habilidad de las citocininas para restringir la de-- gradación de clorofila.

En la prueba de la senectud de la hoja, la zeatina fué notablemente menos activa que la cinetina. Esta dife-- rencia puede surgir de la propiedad lipofílica de la cine-- tina, la que facilita la penetración en la superficie cero-- sa cuando flota en la solución de prueba.

En la prueba del tallo de tabaco, la cual depende de la habilidad de la citocinina para estimular la divi-- sión celular, hay un marcado entre la actividad de los --- miembros C_2 y C_3 de las alcanol purinas, C_4 , C_5 y C_6 mos--

traron una actividad muy elevada superior a la de la cinetina, en cambio los compuestos con C_2 y C_3 son casi inactivos, la disminución tan marcada ocasionada por el acortamiento de C_4 a C_3 sugiere que la longitud de la cadena puede ser más crítica en esta prueba.

En las series alcoxialquilaminopurinas, C_4 y C_5 -- fueron más activas que C_6 pero menos activas que la cinetina (153). En general, se toma a la cinetina como standard, puede decirse que los miembros C_4 - C_6 de la serie alcohol adenina fueron más activos que sus miembros correspondientes en las series alquil y alcoxialquilaminopurinas.

Latham (181), ha hecho estudios sobre la actividad citocinética de varios N^6 purinil amino ácidos utilizando para detectar la actividad el cotiledón de rábano. La actividad de cada 6-purinil amino ácido fué menor que la del análogo hidroximetilo. Esta diferencia en actividad se observó cuando el carboxilo estaba en alfa al nitrógeno exocíclico y cuando el carboxilo estaba en la posición terminal de la cadena lateral. La esterificación del grupo carboxilo aumenta mucho la actividad; esta observación hace surgir la posibilidad de que la oxidación enzimática *in vivo* del grupo hidroximetilo de citocininas presentes naturalmente para dar purinil aminoácidos puede ser un mecanismo

mo de inactivación. La actividad de la N⁶-purinil- α -fenilglicina puede ser una consecuencia de la descarboxilación para dar 6-bencil aminopurina que es altamente activa, aunque esta suposición no se ha comprobado.

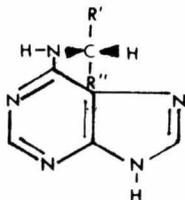
d) Variación en la configuración de la cadena lateral. (Ver tabla 2).

Se puede asumir que la estructura tridimensional - alrededor de un carbón asimétrico en la cadena lateral de las citocininas juega un papel significativo cuando el anillo de purina se orienta en alguna superficie del sitio receptor.

En 1967 Koshimizu (110), aisló una citocinina opticamente activa la (-)-dihidrozeatina. De los dos enantiómeros posibles usando la prueba de retención de clorofila, se demostró que un enantiómero era más activo que el otro (182).

Koshimizu concluyó que los compuestos más activos poseen la misma configuración absoluta y el mismo arreglo de 4 sustituyentes alrededor de un carbón central asimétrico; adenina, un grupo hidroximetilo en R', átomo de hidrógeno y un sustituyente alquil, aril o arialquil en --

R''.



XIII

Los enantiómeros con configuración S son más activos que los que tienen configuración R (ver tabla 2). En los enantiómeros más activos de las dos series de compuestos el sustituyente R' tuvo un sistema de electrones móviles (par solo). Esto permitió a Koshimizu sugerir que el grupo hidroximetil actúa como aceptor de puentes de hidrógeno, lo que permite orientar la molécula en el sitio de acción, el cual puede estar en el cloroplasto (182).

Por otra parte los sustituyentes en R'' ayudarían a unir la molécula a través de una unión hidrofóbica a la superficie del receptor.

e) Sustituyentes cíclicos.

La actividad de los derivados de la adenina con --

sustituyentes cíclicos en N⁶ (bencil, ciclohexil, etc.), -
varía también por insaturación y por variación del tamaño-
del sustituyente y grupos polares. Así por ejemplo, la ---
6-fenilaminopurina tuvo la quinta parte de la actividad de
la 6-bencilaminopurina (esta última es la citocinina susti-
tuída en el anillo con actividad mayor (Ver tabla 1). La -
6-fenilaminopurina fué más activa que la 6-ciclohexilamino-
purina (172).

La 6-ciclopropil y la 6-ciclohexilaminopurinas, --
las dos con anillos saturados, fueron menos activas que --
los compuestos con anillos sustituidos, asimismo la 6-(5--
clorofurfurilamino) purina fué mucho menos activa que la -
cinetina (172).

Pruebas con discos de hojas de rábano (172), sugie-
ren que el cloro en la posición orto de las bencilaminopu-
rinas, aumenta la actividad biológica, en la posición meta
tiene poco efecto y en la posición para es altamente inhi-
bidor. Otros sustituyentes (-OH, -CH₃, -NO₂, -SO₃H, -NH₂) -
disminuyen la actividad citocinética (172).

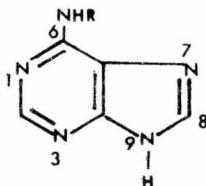
f) Heteroátomos en los grupos sustituyentes.

Los heteroátomos en los grupos sustituyentes dismi

nuyen la actividad como en el caso del nitrógeno o tienen poco efecto como cuando se reemplaza el oxígeno por azufre en el furfurilo de la cinetina. (Ver tabla 1).

La 6-(2-piridilmetilamino) purina, la cual difiere de la 6-bencilaminopurina solamente en el intercambio de nitrógeno por carbono, tiene un décimo de la actividad de la 6-bencilaminopurina; aunque la cinetina y la 6-(2-tenil amino) purina en la cual el átomo de oxígeno se sustituye por azufre, casi tienen la misma actividad (112).

2.- Eliminación del nitrógeno de la posición 6.

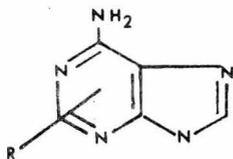


No solamente la cadena lateral en la posición N^6 , sino que el átomo de la posición 6 influye en la actividad de los derivados de la adenina. (Ver tabla 3).

La 1-bencilaminopurina y la 1-(δ,δ -dimetilalilami-

no) purina, fueron inactivas en pruebas donde los derivados de la adenina en la posición 1 pudieron ser activados para dar una prueba positiva.

3.- Sustituyentes en el anillo de purina.



a) Adeninas monosustituidas.

Los derivados monosustituidos de la adenina con un grupo alquilo o arilo en una posición diferente a la N⁶, - exhiben actividad citocinética en diferente proporción, dependiendo de la posición en el anillo de purina y también del proceso de prueba. (Ver tabla 4).

Los primeros trabajos en este campo informan (183) que se encontró actividad citocinética en la 1-bencil y en la 1-(8,8-dimetilalil)adeninas, pero recientemente se han hecho preparaciones purificadas meticulosamente por proce-

dimientos en los cuales se minimiza la exposición al calor y se ha encontrado que solamente en concentraciones muy -- elevadas son activas.

Para minimizar la ruptura química de las substan-- cias en prueba (183), estas se esterilizan por filtración y se añaden al medio después de que este se esteriliza en el autoclave y se le deja enfriar cerca del punto de gela-- ción.

En un medio que se esterilizó en el autoclave, la actividad de las adeninas 1-sustituidas igualó a la del -- isómero N⁶. Se piensa que las adeninas N⁶ sustituidas son activas biológicamente y los isómeros en 1 pueden conver-- tirse a la forma isomérica en 6 u otra forma activa susti-- tuida en 6 (184). Se ha demostrado que el proceso de mayor activación involucra intermediarios que se producen con -- apertura del anillo y un intercambio de átomos de nitróge-- no en las posiciones 1- y N⁶ (185).

Igual que en adeninas 1- sustituidas, las adeninas sustituidas en la posición 3, son aparentemente inactivas, pero pueden convertirse a sus isómeros correspondientes N⁶ (186). Así por ejemplo, la 3-(N,N-dimetilalilamino) puri-- na, más conocida como triacantina aparentemente es inacti--

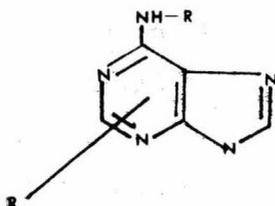
va, su actividad se atribuye a su isómero en 6 (183) que se forma al esterilizar en el autoclave o al calentar en soluciones de ácidos débiles (186, 118).

Las adeninas sustituidas en 9, también se activaron por conversión con calor (172) y mediante pruebas comparativas se vió que el derivado en 9 se activa más lentamente que el derivado en 1.

Las pruebas de los derivados monosustituidos apuntan a la conclusión de que solamente los sustituyentes en N⁶ confieren actividad citocinética a la adenina y que --- otros derivados con actividad aparente se convierten a los isómeros N⁶. La facilidad de la conversión decrece en el orden 1) 3) 9 (172).

Aparentemente los derivados sustituidos en la posición 7 no fueron activos (114); este comportamiento está de acuerdo con el postulado de la formación del isómero N⁶ por ruptura y cierre del anillo cuyo camino excluye a las adeninas sustituidas en 7 como fuentes posibles de la sustitución N⁶. Los derivados sustituidos en posiciones 2 y 8 también son inactivos (172, 114, 187).

b) Adeninas disustituidas.



La adición de un segundo sustituyente a una adenina monosustituída generalmente reduce su actividad, el grado de esta reducción varía con la naturaleza y posición -- del sustituyente. Por ejemplo, la adición de un metilo en la posición N⁶ de la cinetina o de la 6-bencilaminopurina disminuye la actividad 100 veces (172).

La N⁶,7-dibenciladenina y la N⁶,9-dibenciladenina sin embargo, si no se exponen al calentamiento son activas solamente a concentraciones muy elevadas (ver tabla 5).

La 6-bencilamino-9-(2-tetrahidropiranyl) purina, - es extraordinariamente potente en promover la retención de clorofila (188) y es casi tan activa como la 6-bencilamino purina en promover el crecimiento del callo de tabaco, esta actividad elevada puede deberse a la labilidad del sustituyente en 9, que se ha demostrado por lo menos en un caso (189) se remueve metabólicamente por el tejido de la --

planta.

Otros análogos de las citocininas sustituidos en la posición 9, incluyendo los derivados metil (190) etil, propil, hidroxipropil (191), ciclohexil, butil (192) de la 6-bencilaminopurina; el derivado metilado de la 6-(4-trans-hidroxi-3,2-butenilamino) purina (193), el derivado ciclohexílico de 6-(3-metil-2-butenilamino) purina (194), el derivado ciclohexílico de la zeatina (194) y la 9-butilbenciladenina (3) tienen también actividad igual o ligeramente menor a la del compuesto padre en los diferentes bioensayos (189, 196, 197).

La falta relativa de actividad de la 6-bencilamino-9-ciclohexilpurina (194, 195), puede relacionarse a la habilidad de los tejidos para remover los sustituyentes de la posición 9 de la purina.

En las 6-bencilaminopurinas, la adición de un metilo a la posición 1 elimina prácticamente la actividad mientras que la adición de un bencilo en la misma posición, -- tiene un efecto menos depresivo; la diferencia en efectividad entre los dos puede explicarse por la facilidad del tejido para eliminar el grupo bencilo; esta interpretación -- está apoyada en que la actividad de la 6-(1,3-dimetilalila

mino) purina se elimina cuando el carbón de la cadena lateral se une a la posición 1 para formar el compuesto tricíclico. La 1-bencil-6-metilaminopurina requeriría un rearrreglo de la posición 1 a la posición N⁶ y la pérdida del metilo para tener actividad; como se esperaba, este compuesto prácticamente no tiene actividad.

La sustitución en la posición 3 de un grupo metilo o bencilo en la 6-bencilaminopurina, reduce drásticamente la actividad o la elimina y la adición de un metilo a la zeatina en las posiciones 3, 7 o 9 dá compuestos con actividad en el tejido de zanahoria en el siguiente orden 3>9> zeatina>7 (193).

La metilación de la cinetina en la posición 8 --- (198) del anillo de purina, aumentó mucho la actividad en la prevención de la senectud de las hojas de cebada; si el metilo se reemplaza por grupos propilo o butilo, se obtienen compuestos inactivos.

Si se adiciona un grupo amino en la posición 2 a la cinetina o a la 6-bencilaminopurina se retiene algo de la actividad en la prueba del callo (180).

La sustitución de la adenina en posiciones diferentes

tes a la N⁶ tiene varios efectos en la actividad, por ejemplo: la 3-(N,N-dimetilalil)-7-metiladenina es completamente inactiva (172), mientras que la 1,7-dibenciladenina y - la 1,9-dibenciladenina son casi tan activas como los isómeros N⁶,7- y N⁶,9- respectivamente, cuando se calientan en la prueba, pero cuando se esterilizan por filtración solamente a concentraciones elevadas tienen actividad (172). - (Ver tabla 7).

Puede concluirse entonces que la actividad citocinética elevada se limita a los compuestos N⁶ sustituidos, - aunque sustituyentes en posiciones diferentes a la N⁶ y - dar moléculas activas. La sustitución adicional en los derivados N⁶ de la purina, baja la actividad en todos los ca sos. Si las adeninas disustituidas son activas probablemen te sufren activaciones en el proceso de prueba, por elimi nación de los sustituyentes en posición diferente a la N⁶- (172).

Se ha sugerido que la posición 1 y tal vez la 3 de ban estar libres ya que un segundo sustituyente en las po siciones N⁶, 7 o 9 disminuyeron pero no elimi naron la acti vidad.

Hecht (199), sintetizó y midió la actividad citoci

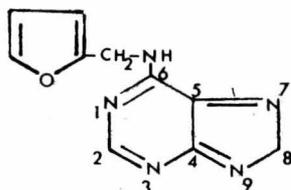
nética (callo de tabaco) de derivados de la zeatina y de la 6-(γ,δ -dimetilalilamino) purina sustituidos en la posición 2 (ver tabla 6). Los derivados de la zeatina fueron más activos que los de la 2iP correspondientes, estos datos concuerdan con la ligera diferencia en actividad de los compuestos no sustituidos en la posición 2. El orden de actividad de los derivados de la 2iP y de la zeatina fué $\text{Cl} > \text{NH}_2 > \text{CH}_3\text{S} > \text{OH}$. El derivado clorado fué más activo que la zeatina.

4.- Modificaciones al anillo de purina.

Se hará referencia en este capítulo, a las muy diferentes modificaciones que se han hecho al anillo de purina y a las actividades resultantes (ver tabla 9). La generalización en este caso se hace muy difícil, ya que los trabajos han sido realizados por diferentes grupos y no tienen conexión entre sí.

El reemplazo del -CH de la posición 8 por azufre o nitrógeno en la cinetina hace que la actividad disminuya drásticamente en la prueba del callo de tabaco (172, 174). En cambio, la azacinetina (XIV), es más activa que la cinetina en el experimento del tejido de zanahoria (200, 201)- y promueve la división celular en el callo de frijol de so

ya (173).



XIV

X=N(XIV),S.

En estudios que realizó Rogozinska (202), observó que el reemplazo del N por el C en la posición 1 del anillo de purina en la cinetina disminuye la actividad 15 veces mientras que el mismo intercambio de N por C en la 6-(δ,δ -dimetilalilamino) purina disminuye la actividad 2 veces.

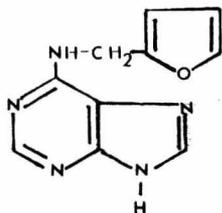
El reemplazo del nitrógeno de la posición 3 por carbono, disminuye la actividad 2 000 veces para la cinetina y 1 000 para la 2iP (202).

Como puede verse en la tabla 9 la actividad de los análogos 8-aza-1-deaza parece ser del mismo orden que la de los análogos 1-deaza, que es muy baja. Los análogos correspondientes 8-aza-3-deaza son menos activos que la cinetina (400 veces) y que la 2iP (40 veces).

Rogozinska (202) encontró que el rango de concentración al cual las ribosas presentan actividad es casi el mismo que para las bases libres aunque el rendimiento de callo de tabaco para el nucleósido análogo 3-deaza de la 6-(3-metil-2-butenilamino) purina es muy bajo (ver tabla 9).

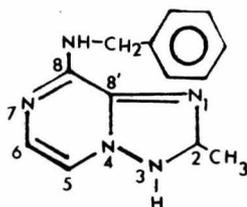
Se ha visto (180) que el intercambio del carbón 8 y el nitrógeno de la posición 7 de la cinetina para dar 4-furfurilpirazolo (3,4-d) pirimidina (XV), elimina la actividad completamente (180). Más recientemente Miller (64), ha encontrado que todos los compuestos pirazolo son inactivos.

El compuesto XVI, presenta actividad elevada y da un rendimiento de callo de tabaco mejor que el que se obtiene con la concentración óptima de cinetina mientras el reemplazo del -NH en 8 por oxígeno o azufre da compuestos inactivos. Si se pasa el grupo bencilamino de la posición 8 a la 6 se obtiene un compuesto de poca actividad; el cambio del nitrógeno de la posición 6 de este último compuesto por azufre, se forma un compuesto de baja actividad y si se reemplaza por oxígeno pierde la actividad (203).

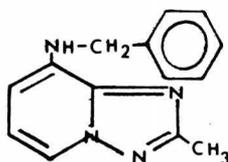


XV

XVI

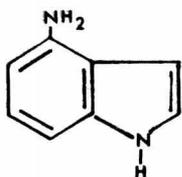


Debido a que otro análogo de la cinetina, 2-metil-s-s-triazolo (1,5a)-piridina (XVII), mostró actividad elevada del mismo orden que la del compuesto XVI, los autores (203) dedujeron que el nitrógeno de la posición 7 en los - compuestos anteriores no está relacionado con la actividad citocinética.



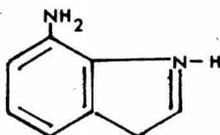
XVII

Según demostró Torigoe (203), el 4-aminoindol --- (XVIII) y el 4-bencilaminoindol tienen una actividad débil y esporádica en el callo de tabaco. El 7-aminoindol y el 7-bencilaminoindol son inactivos (203).

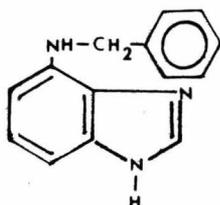


XVIII

XIX

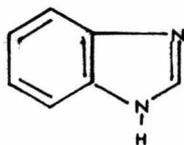


El 4(7)-bencilaminobenzimidazol (XX), muestra actividad en pruebas de retención de clorofila, pero no tiene actividad en la germinación de semillas de tabaco ni en el callo de zanahoria (204, 205).



XX

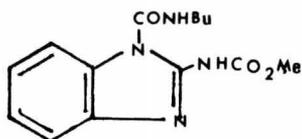
Pozsar (206), ha informado que el benzimidazol --- XXI, posee actividad en las pruebas de retención de clorofila; en el crecimiento de hojas; en la síntesis de proteínas y en la síntesis de betacianina (207).



XXI

El benomil (XXII), muestra actividad citocinética-

en la síntesis de betacianina en el *Amarantus Caudatus* ---
(208).

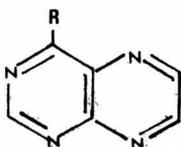


XXII

Ya que el imidazol (XXIII), tiene una cierta actividad citocinética, Yamada (209), sugirió que este anillo es indispensable para la actividad y para confirmar esta proposición estudió la actividad de pteridinas sustituidas en la posición 4 (210) que efectivamente son inactivas --- (XXIV).



XXIII



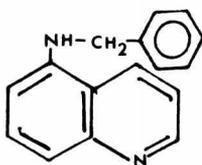
XXIV

Otros estudios relacionados, son los de Torigoe -- (203), quien sintetizó tres análogos de la cinetina con -- anillo de azanaftaleno. La 5-bencilaminoquinoxalina XXV es activa y dá un rendimiento de callo de tabaco del 50% del que es producido por una concentración óptima de cinetina.



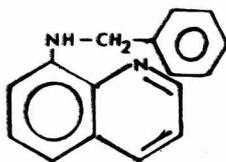
XXV

La 5-bencilaminoquinoxalina (XXVI) tiene baja actividad y dá un rendimiento del 25% del inducido por una con--centración óptima de cinetina. El compuesto XXVII es inac--tivo.

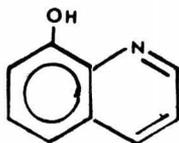


XXVI

El sulfato de 8-quinolinol (211), resultado de --- sustitución de nitrógeno por oxígeno en aminoquinolinas no tiene actividad (XXVIII).

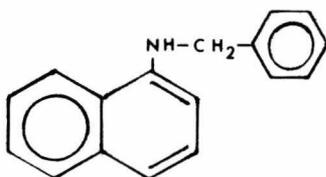


XXVII



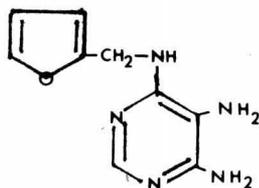
XXVIII

Torigoe (203) demostró que el alfa bencilaminoftaleno (XIX), un análogo de la cinetina que tiene un anillo de naftaleno no mostró actividad.



XXIX

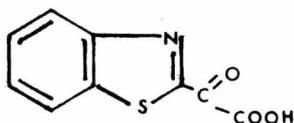
Kulaeva (198), ha estudiado la actividad citocinética de varias pirimidinas y ha demostrado que la 4-furfurilamino-5,6-diaminopirimidina (XXX) tiene poca habilidad para prevenir la senectud de las hojas de cebada, por ejemplo, el reemplazo de un grupo 5-amino por un grupo nitro - dá lugar a la pérdida de la actividad fisiológica; mientras que la unión de un grupo butirilo o valerillo al nitrógeno de esa posición dá compuestos con actividad elevada. Kulaeva además observó la pérdida de la actividad con el grupo amino benzoilado y cuando los grupos amino 5 y 6 se butirilaron.



XXX

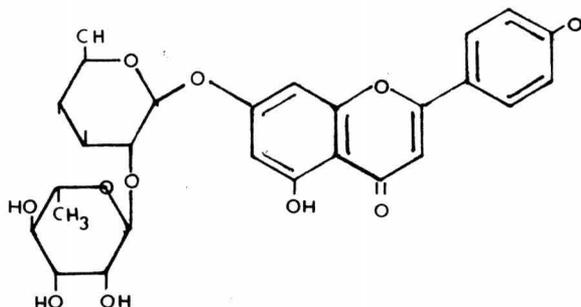
En la 6-bencilaminopirimidina la introducción de un metilo en la posición 6 aumenta la actividad, si se le adiciona un -SH u -OH en la posición 2, también se deactiva el compuesto.

Además de las purinas y las ureas, se han encontrado otros compuestos de diferente estructura que presentan actividad citocinética. Así por ejemplo, el ácido benzotiazil-2-oxiacético (XXXI), tiene una actividad elevada en el tejido de zanahoria (200).



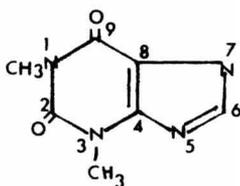
XXXI

El hoifolin (XXXII) tuvo actividad citocinética en hojas de cebada (212) de inducción de la división celular.



XXXII

Wood (130), encontró que la teofilina (1,3-dimetilxantina) tiene actividad mayor que la teobromina (3,7-dimetilxantina) en la promoción de la división celular y que la cafeína (1,3,7-trimetilxantina) es inactiva; en otros experimentos, Kessler (213, 214) encontró actividad citoci



XXXIII

nética en la cafeína y en la xantina para la promoción de la síntesis del RNA y de las proteínas.

En trabajos recientes se ha encontrado actividad antitumorosa en la purinil-6-tiona y en sus correspondientes nucleósidos, así como en algunas purinas sustituidas por grupos aminos en la posición 8 como la 8-amino-6-tioguanina y la 8-amino-adenosina (227).

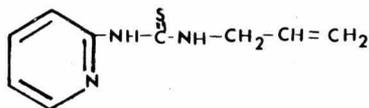
3 Relaciones estructura-actividad de ureas.

1.- Variación del puente -NH-CX-NH-

Cualquier variación en el puente -NCKN-, ya sea el reemplazo del oxígeno del carbonilo en la urea por el azufre, o por N, o el reemplazo de los nitrógenos de la urea por oxígeno (215, 216), produce una disminución de la actividad (Tabla 10). Así las guanidinas, amidas y anilidas son inactivas y las tioureas tienen una actividad moderada.

Por ejemplo, se sintetizaron derivados N-alil-N'-feniltioureas (217) con sustituyentes metil, metoxi, hidroxilo, cloro, carboxi o N-(2-cloroetil) trimetil amonio en el fenil se determinó su actividad citocinética en las pruebas de preservación de clorofila. El aliltioureidobenzato de N-(2-cloroetil)-trimetilamonio fué el compuesto más activo con sustitución en orto y los derivados clorofe

nilo en posiciones m y p fueron los más activos de sus series respectivas. La actividad de los derivados clorofenilo aumentó con la sustitución de otro cloro, el derivado -3,4-diclorofenilo fué el más activo siguiéndole en actividad los derivados 2,5 y 2,3-diclorofenilo. Los derivados -N-alil-N-3-hidroxi-4-carboxifeniltiureas también tuvieron actividad. El estímulo del crecimiento en discos de hojas de rábano por la N-alil-N'-4-metil-5-clorofeniltiurea y -fenil-N'-p-carboxifeniltiurea fué casi tan elevado como el producido por cinetina.



XXXIV

En pruebas de retención de clorofila (218), los derivados N-alilo con sustituyentes α -piridiltiurea, fenilpsemicarbazida, (2-hidroxi-4-nitrofenil) tiurea y 2-cloro-4-nitrofeniltiurea en N' fueron los que presentaron -- mayor actividad citocinética.

Karanov (219), hizo estudios acerca de las relacioo

nes de estructura actividad en varias tioureas, utilizando para medir la actividad la elongación celular en coleoptilo y la germinación de las semillas de maíz. La sustitución de un hidrógeno en la tiourea por el grupo alilo aumentó la actividad herbicida pero disminuyó la elongación celular; la sustitución de un hidrógeno en el grupo amino en la aliltiourea, aumentó su actividad y la introducción de un anillo de piridina en el mismo compuesto aumentó su actividad, el isómero α fue más activo que el β . De los compuestos 1-alil-3-carboxi fenil) tiourea y los 1-alilo--hidroxifenil) tiourea los isómeros en orto fueron los más activos; los derivados 1-alilo-3-aminofeniltioureas el isómero en para tuvo actividad herbicida y el isómero en meta es el más activo en la elongación celular; 1-alilo-3-(p-nitrofenil) tiourea es el compuesto con mayor actividad como herbicida, exceptuando a la 1-alil-3-(o-hidroxifenil) tiourea y excede en la elongación celular a todos menos al 1-alil-3-(o-carboxifenil) tiourea. Los derivados sustituidos en meta con amino, carboxilo e hidroxilo no difirieron en actividad en pruebas de elongación celular.

En otros estudios (228) se encontró que la 2,4,5--triclorofenoxietiltiourea es más activa que la 2,4--dicloro fenoxietiltiourea.

Starova (229), estudió el metabolismo de las tio--
ureas en las plantas haciendo uso de S^{35} y encontró que es
tos estimuladores del crecimiento se descomponen y participan
en el metabolismo de las plantas puesto que encontró -
radioactividad considerable en los amino ácidos y poca en-
los carbohidratos.

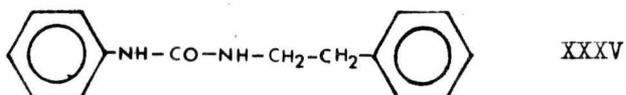
Otros trabajos relacionados con las tioureas pue--
den ser revisados en las referencias 230 y 231.

2.- Variación del sustituyente R en $RNHCCNHR'$.

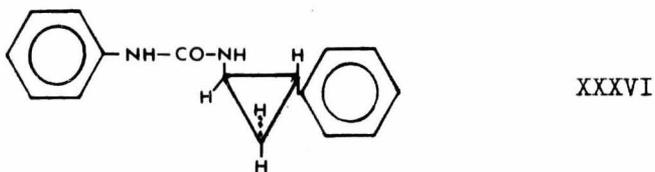
Como se muestra en la Tabla 11, si R' es H y R es
alquilo, el compuesto resultante carece de actividad, el -
compuesto activo de estructura más simple es la fenil urea.
Si R' es fenilo y R es alquilo, mientras más átomos de carbono
tenga R, el compuesto resultante presenta menor acti-
vidad. Siendo la N-metil-N'-fenil urea el compuesto más activo.
Los compuestos con anillos y cadenas alifáticas de 5
y 6 miembros no son activos, mientras que la N-ciclopro---
pil-N'-fenilurea que tiene un anillo de 3 miembros si es -
activa (224).

Como puede verse en la tabla 12, la actividad de -
la N-fenil-N'-metilurea disminuye 75 veces cuando el meti-

lo se sustituye por un bencilo, de hecho, la presencia de un grupo bencilo dá compuestos inactivos, no importando la naturaleza del grupo unido al otro nitrógeno. Puede verse además que la separación de un fenilo del átomo de N por dos grupos metileno como en la N-fenil-N'-2-feniletileurea dá un compuesto inactivo, mientras la trans-2-fenilciclo--



propilurea, posee actividad aunque el grupo fenilo está separado del N por una cadena de dos átomos de carbono; esta diferencia puede deberse a transmisiones de efectos electrónicos a lo largo del anillo de ciclopropilo, lo cual no sucede en el derivado 2-feniletílico.



3.- Ureas tri- y tetra-sustituídas.

Los resultados de la tabla 11 muestran que por lo menos un grupo aromático es necesario para que una urea -- sustituida tenga actividad, un segundo sustituyente aromático casi invariablemente aumenta la actividad. Se observa en la tabla 3 que una tercera sustitución en los nitrógenos disminuye mucho la actividad.

4.- Variación del sustituyente en el anillo bencénico (ver tabla 4). $RC_6H_4NHCONHR'$, R' es H o fenilo.

La sustitución del anillo bencénico en orto dá generalmente un compuesto menos activo que la sustitución en meta o en para; en general los compuestos meta sustituidos son más activos que los para, aunque en muchos casos la diferencia es pequeña. Así por ejemplo cuando R' es H, el derivado monometílico meta sustituido es más activo que el isómero para y el compuesto orto sustituido es inactivo. - Cuando R es un fenilo, los tres isómeros muestran actividad siendo el compuesto meta el más activo y el orto el menos activo.

Los compuestos que tienen dos sustituyentes dife--

rentes en un anillo, generalmente tienen una actividad intermedia entre las actividades de los compuestos monosustituidos correspondientes (ver tabla 14), igual que en derivados monosustituidos existe un efecto inhibitorio por sustitución en la posición orto probablemente debida a alguna interacción estérica (ver tabla 14). Mediante modelos estereoquímicos puede verse que un sustituyente orto puede interaccionar con el grupo carbonilo, o con el NH más apartado de él.

5.- Efectos de la modificación de ambos fenilos.

En la tabla 15, puede verse que la inclusión en el mismo compuesto de dos fenilos sustituidos dá un compuesto menos activo que cualquiera de los derivados N-monosustituidos, puede decirse entonces, que el efecto de los sustituyentes no es aditivo para diferentes anillos. En general las actividades de los compuestos simétricos raramente alcanzan las de los derivados N-monosustituidos (215). Por ejemplo, la N-3,4-diclorofenil-N'-2-nitrofenil urea es --- inactiva mientras que la 3,4-diclorofenil urea es 67 veces más activa que la 2-nitrofenilurea. Similarmente la N,N'-bis-(3-tolil)-urea es menos activa que el compuesto monosustituido.

En los compuestos 2,4-dimetilfenilo solo 4 de los compuestos probados fueron activos, mientras que 9 de los compuestos 3,4- fueron activos.

Los compuestos 4-halofenilo aumentan su actividad en el siguiente orden $\text{Br} < \text{Cl} < \text{F}$. Este orden es también el -- del aumento de electronegatividad y sugiere que la electronegatividad de los sustituyentes es uno de los factores -- que contribuyen a la actividad que se observa en estos compuestos, aunque no es el único. Puede verse en la tabla -- que el derivado clorado es más activo que el nitrado: el -- grupo nitro es más grande que el cloro, lo que puede ser -- causa de la inversión de la actividad.

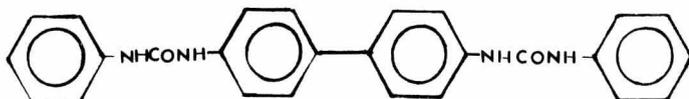
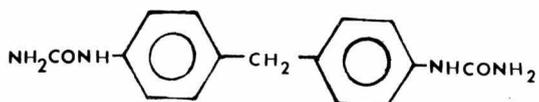
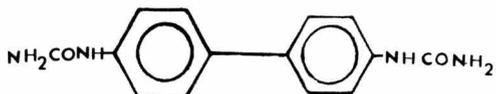
6.- Efecto de los sustituyentes heterocíclicos.

Como se vé en las tablas 10 y 11 que los grupos -- indolil, quinolil y piridil tienen efectos similares a los del fenilo en aumentar la actividad de la fenil urea (224).

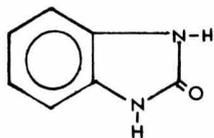
7.- Unión de varias moléculas de difenil y fenil urea.

Los compuestos formados de fenil urea o de difenil urea, unidos directamente o a través de un metileno son --

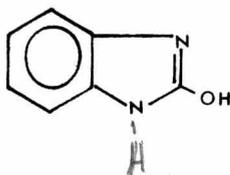
inactivos (224).



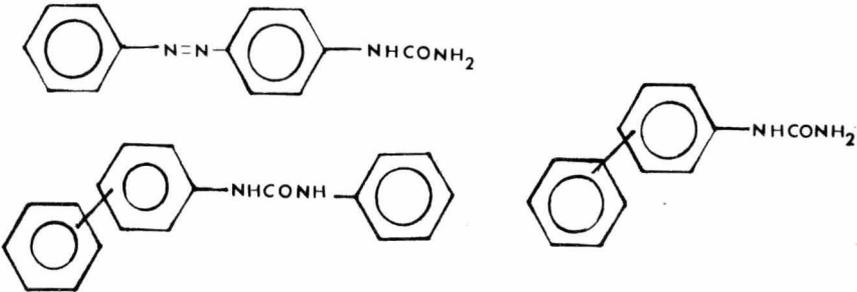
La benzimidaxolona es un compuesto inactivo que -- tiene un puente de urea cíclico en la posición 1,2 del fenilo, se piensa que exista predominantemente como su isóme_ ro 2-hidroxibenzimidazol. Los tres compuestos siguientes - tampoco presentan actividad (224).



||



XL



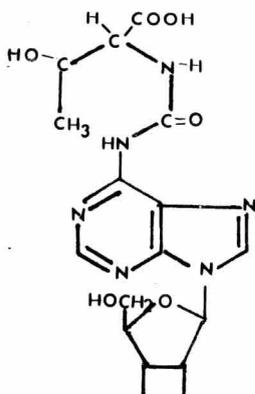
4 Relaciones estructura-actividad de ureidopurinas.

Dyson (222), aisló e identificó del RNAt de la levadura, de la *E. coli* y de tejido animal a la N-(nebulina-6-ilcarbamoil) treonina (XLIV), como se aisló del RNA-se pensó que promovería el crecimiento vegetal, este compuesto no presentó actividad y Dyson pensó que la carga negativa del carboxilo no lo deja penetrar en la célula y que otra alternativa podía ser que el compuesto (XLIV) no tenía actividad, sino que la actividad la ejerce un producto metabólico.

En la tabla 17 pueden verse las actividades citocinéticas de varios de estos compuestos.

Se sabe que en caso del fenilo, que un átomo de carbono que une al anillo con el N⁶ de la adenina provoca un aumento en la actividad y que un puente de dos o más --

carbones reduce la actividad (172). La 6-fenil ureidopurina tiene el 8% de la actividad de la 6-bencilaminopurina - (223).



XLIV

En las series N, N'-difenil urea, Bruce (224), reportó que la sustitución en uno de los fenilos generalmente dá productos con actividad en el orden: meta para orto. Para las 6-fenilureidopurinas, Mc Donald (223) encontró el siguiente orden de actividad o-tolilo m-clorofenil p-tolilo. Así, a pesar de que la única diferencia entre las dos series es el reemplazo del fenilo por un 6-purinilo, este reemplazo aumenta la actividad citocinética y cambia el efecto del sustituyente del fenilo en la actividad.

Considerando a las 6-fenilureidopurinas como ureas

disustituidas, debe notarse que la N'-fenil-N-purinil-6-urea es 25 veces más activa que la N,N'-difenilurea en el tallo de tabaco. La adición de un segundo sustituyente al N⁶ de las purinas disminuyó drásticamente la actividad y la actividad de los ribonucleósidos está en el mismo orden decreciente que las bases correspondientes. (Ver tabla 18). (223).

5 Comparación de las relaciones estructura-actividad en las purinas, ureas y ureidopurinas.

Probablemente la actividad de un compuesto particular depende de como cumple con un número de requerimientos diferentes a veces conflictivos y quizás también de su capacidad para alcanzar el sitio de acción. Es muy difícil - por lo tanto establecer un grupo de reglas para determinar la actividad de estos compuestos.

Bruce y Zwar (224) han sugerido que aunque las --- ureas son estructuralmente muy diferentes de los derivados de las adeninas, una parte común entre las dos es la unión -N-C-N- de la cual, los derivados de la adenina tienen 4 y las ureas 1. El N amino en las purinas semeja al sustituyente en meta de la fenil urea. En otros aspectos los requerimientos estructurales para la actividad parecen ser di

ferentes en las dos clases de compuestos.

Kefford (215), encontró una correlación entre la -habilidad para promover la retención de clorofila y la iniciación de la división celular en los derivados de la urea. El puente -NHCONH- y el anillo planar aromático son requerimientos para ambos y los cambios en actividad que surgen de la variación de esta estructura básica son similares; -aunque la comparación de actividades de sustancias exógenas en tejidos diferentes están sujetas a confusión por -- los factores secundarios como la toma, movimiento y metabolismo del compuesto; Kefford piensa que el sitio receptor para la actividad citocinética es el mismo en el retraso -de la senectud y la iniciación de la división celular.

En el modelo mas simple, un derivado de urea y un receptor en la célula interaccionan y se forma el complejo (si es activo) iniciando así la respuesta.

Se ha postulado que las ureas con un anillo tienen los elementos estructurales necesarios para una unión exi-tosa y la formación de un complejo activo. En aquellos compuestos activos con dos anillos, puede decirse que solamente un anillo se unirá al receptor y que el otro anillo actuará modificando la unión o la actividad del complejo.

La N-bencil-N-fenil urea es un fuerte antagonista de una fenil urea activa como la N-3,4-diclorofenil urea.- Kefford (215) presume que este antagonismo involucra la -- competencia entre el fenilo de la N-bencil-N'-fenil urea y el de la 3,4-diclorofenil urea en la función de unión, por que la N-bencil urea no es un antagonista. Los efectos an- tagónicos de los análogos orto, meta y para de cloro- y -- N-bencil-N'-nitrofenil ureas mostraron que el orden de au- mento del antagonismo fué también el orden de aumento de - la actividad citocinética de las cloro y nitrofenil ureas. Así, para la actividad a través de la sustitución de un fe nilo con grupo nitro o cloro, la sustitución en orto es la menos favorable para la unión. Este razonamiento está apo- yado por las actividades de los derivados de N-l-propil-N' -tolil urea para los cuales el propilo no puede estar di-- rectamente involucrado en la unión.

La formación del complejo entre fenil urea y un re ceptor en la célula puede suceder por dos tipos de interac- ción:

- a) Enlace de anillos, involucrando los electrones-
pi.

- b) Formación de puentes de H por la unión peptídi-

ca -NH-CO-.

Ambos tipos de interacción, pueden ser afectados por la sustitución en meta y para al anillo, se esperaría que influyeran el potencial del puente de hidrógeno. La inhibición de actividad observada por los sustituyentes en orto más parece ser estérica y que previene a la molécula de fenil urea de tomar la conformación necesaria para el receptor.

Los efectos inhibitorios de la sustitución orto de las fenil ureas son aplicables a algunas ureidopurinas --- (223). Esto puede sugerir que los derivados de fenil ureas efectúan su actividad proveyendo de un sustituyente en N⁶ para una 6-aminopurina. No obstante las relaciones estructura actividad encontradas para las ureidopurinas no son paralelas a las encontradas para ureas sustituidas. Por ejemplo Mc Donald (223), encontró que las 6-fenil-ureidopurinas mostraron un orden decreciente en actividad o-tolilo m-clorofenilo p-tolilo, el cual contrasta con el orden: m-clorofenilo p-tolilo o-tolilo (224).

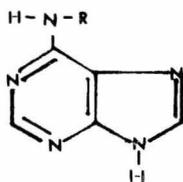
Las citocininas derivadas de la urea y las derivadas de la purina tienen los mismos efectos regulatorios -- sobre una variedad de procesos de desarrollo, sugiriendo -

que actúan en el mismo sitio de la célula. Esta posibilidad está apoyada por los efectos de los antagonistas de la bencil urea en la actividad citocinética y por el hecho de que la interacción de las citocininas derivadas de purinas y ureas con el sitio primario para la inducción de la división celular puede requerir predisposición metabólica de - ambos tipos de moléculas (232).

Las investigaciones de relaciones de estructura-actividad de las citocininas púricas (223, 181, 225) no han dado una definición de los requerimientos para la actividad que ayuden a especular las relaciones estructura-actividad para las citocininas ureicas o la naturaleza del sitio receptor.

Miller (64) señaló hace algunos años que las ureas sustituidas, muy bien pueden ser utilizadas por las célu-- las como precursores de análogos de la cinetina en vista - de la relación metabólica entre el anillo de purina y la - urea, esto es, que la célula generalmente construye el anillo de purina incorporando una molécula de dióxido de carbono en la posición 6 y Miller pensó que la difenil urea o algunos de sus derivados podrían proporcionar el carbón pa- ra esta posición dando como resultado un anillo de purina- con un grupo fenilamino.

Tabla 1. Actividades relativas de adeninas N⁶-sustituidas-
expresadas en concentraciones (μ M).



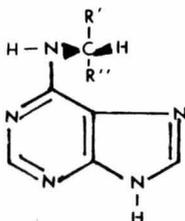
R	Resp. detec.	Max. Rend.	Bioensayo	Ref.
H	200	800	Callo Tabaco	172
metilo	100	200	" "	172
propilo	.02	5	" "	172
pentilo	.001	.1	" "	172
decilo	25	125	" "	172
bencilo	8×10^{-4}	7×10^{-2}	" "	172
ciclohexilo	5×10^{-1}	12.5	" "	172
fenilo	4×10^{-3}	5×10^{-1}	" "	172
ciclopropilo	1×10^{-1}	2	" "	172
furfurilo	1×10^{-3}	1×10^{-1}	" "	172
2-piridilo	.02	.5	" "	172
2-tenilo	.004-2	.1	" "	172
5-clorofurfurilo	2×10	5×10	" "	172
2,3-dihidroxi- 3-metilbutilo	.1	2.5	" "	172

4-hidroxi-butilo		10^{-3}	Callo Tabaco	172
furfurilo	.001	.1	" "	172
furfurilo	10^{-5}	10^{-1}	Coleoptilo	158
ribosilo	2.5	25	Callo Tabaco	172
etiletoxi		10^{-3}	" "	158
etilfenoxi	.02	.5	" "	158
α -fenilglicina	inactiva		" "	172
γ -hidroximetil- α -metilalil	10^{-5}	10^{-1}	Coleoptilo	158
trans- γ -hidroxi metil- α -metilalil	.0005	.5	Callo Tabaco	172
2-hidroxi-etilo	10^{-4}	2×10^{-1}	Coleoptilo	158
3-hidroxi-propilo	10^{-4}	.2	"	158
4-hidroxi-butilo	10^{-4}	.2	"	158
5-hidroxi-pentilo	10^{-4}	.2	"	158
γ -hidroximetil- δ -metilalil	10^{-6}	.2	Senectud	158
furfurilo	10^{-6}	.2	"	158
2-hidroxi-etilo	10^{-3}	.2	"	158
3-hidroxi-propilo	10^{-3}	.2	"	158
4-hidroxi-butilo	10^{-4}	.2	"	158
5-hidroxi-pentilo	10^{-4}	.2	"	158
6-hidroxi-hexilo	10^{-4}	.2	"	158
3-metil-2-buteni lo	.001	.02	Callo Tabaco	172
α, α -dimetilalil	.004	.02	" "	172
alil	.05	.5	" "	172



isoamilo	.004	.1	Callo Tabaco	172
Trans-4-hidroxi- 3-metil-2-buteni lo	3×10^{-4}	1.5×10^{-2}	" "	201
3-metil-2-buteni lo	5×10^{-4}	3×10^{-2}	" "	201
cis-3-cloro-2-bu tenilo	1×10^{-4}	4×10^{-2}	" "	201
3-metil-butilo	5×10^{-3}	5×10^{-2}	" "	201
Trans-3-cloro-2- butenilo	.001	4×10^{-2}	" "	201
3,3-dimetilbutilo	1×10^{-2}	5×10^{-2}	" "	201
2-bromo-3-metil- 2-butenilo	3×10^{-2}	1×10^{-1}	" "	201

Tabla 2. Efecto de adeninas N⁶-alquil y arialquil sustituidas opticamente activas en retrasar la ruptura de clorofila en hojas de cebada.

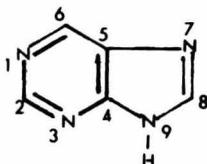


R'	R''	Indice de - Preservación de clorofila	Concentra- ción Moles/l
-CH ₂ OH	-CH(CH ₃)CH ₃	60	10 ⁻³
-CH(CH ₃)CH ₃	-CH ₂ OH	40	10 ⁻³
-CH ₂ OH	-(CH ₂)SCH ₃	99	10 ⁻³
-(CH ₂) ₂ SCH ₃	-CH ₂ OH	70	10 ⁻³
H	-CHC(CH ₂ OH)CH ₃	130	10 ⁻⁴
-CH ₂ OH	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₃	115	10 ⁻³
-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₃	-CH ₂ OH	75	10 ⁻³
-CH ₂ OH	-Ph	120	10 ⁻³
-Ph	-CH ₂ OH	65	10 ⁻³
-CH ₂ OH	-CH ₂ Ph	120	10 ⁻³
-CH ₂ Ph	-CH ₂ OH	25	10 ⁻³
-CH ₃	-Ph	100	10 ⁻³
-Ph	-CH ₃	99	10 ⁻⁴
H	-Ph	100	10 ⁻⁴

El índice 0 corresponde a secciones tratadas con agua y el índice 100 corresponde a secciones tratadas con cinetina.

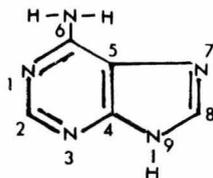
10^{-5} M.

Tabla 3. Actividades relativas de purinas sustituidas en -
la posición 6, dadas en concentraciones.



R	Concentración (μ M)		Bioensayo	Ref.
	Resp. Detec.	Max. Rend.		
δ,δ -dimetilaliltio	.01	2.5	Callo Tabaco	172
3-metil-2-butenilo	inactivo		" "	172
metilo	inactivo		" "	172
bencilo	inactivo		" "	172

Tabla 4. Actividades relativas de adeninas monosustituidas en las posiciones 1,3,9 y 7.



Sust. en N ₁	Concentraciones		Bicensayo	Ref.
3-metil-2-butenilo	.0002 ^a μM	.5 ^a μM	Callo Tabaco	172
bencilo	.004 ^a	1 ^a	" "	172
Sust. en N ₃				
3-metil-2-butenilo	.5 ^f	2.5 ^f	" "	172
bencilo	.1 ^f	12.5 ^f	" "	172
furfurilo	10 ^a	100 ^a	" "	172
alilo	inactiva		" "	172
metilo	1 ppm		Zanahoria	193
Sust. en C ₇				
3-metil-2-butenilo	5μM	25 ^{f,a}	Callo Tabaco	172

metilo	1 ppm		Zanahoria	193
--------	-------	--	-----------	-----

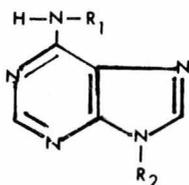
Sust. en N₉

3-metil-2- butenilo	2.5 ^{a,f}	62.5 ^{a,f}	Callo Tabaco	172
metilo		1 ppm	Zanahoria	193

a esterilizada por autoclave

f " en frío

Tabla 5. Actividades relativas de adeninas N⁶,9-disustituidas.



R ₁	R ₂	Conc. óptima	Peso fresco	bioensayo	ref.
bencilo	glucosilo				
bencilo	butilo	10 ⁻⁶ M	3000	Frijol Soya	161
bencilo	H	10 ⁻⁶ M	2500	" "	161
bencilo	ribosilo	10 ⁻⁶ M	2300	" "	161
bencilo	metilo	10 ⁻⁶ M	1700	" "	161
furfurilo	H	10 ⁻⁶ M	1600	" "	161
			Densidad óptica	Síntesis de betacianina	
bencilo	butilo	10 ⁻⁷ M	.8	"	161
bencilo	H	10 ⁻⁵ M	1.4	"	161
furfurilo	H	10 ⁻⁵ M	.7	"	161
		Resp. Detec.	Max. Rend.		
3-metil-4-hidroxi-2-butenilo	ribosilo	.01 ^μ M	.1 ^μ M	Callo Tabaco	201
3-metilen-2-butenilo	ribosilo	.01 "	.1 "	" "	201

Trans-3-cloro- 2-butenilo ribosilo	.004 M	.05 M	Callo Tabaco	201
Cis-3-cloro-2- butenilo "	.01 "	.05 "	" "	201
3-metilbutilo "	.02	.03	" "	201
3,3-dimetil- butilo "	.01	.04	" "	201
2-bromo-3-me til-2-buteni lo "	.06	.3	" "	201
bencilo bencilo	.1	2.5	" "	172
furfurilo ribosilo	.001	.1	" "	172
3-metil-2- butenilo "	.01	.05	" "	172
bencilo 2-tetrahi- dropirani- lo	IRC 80	10	Retención de clorofila	194
3-fluoro- 2-tetrahi bencilo dropirani lo	75	10	"	194
	Resp. Detec.	Max. Rend.	ICR bioensayo	
3-metil- 2-tetrahi 2-buteni dro pira- lo nilo		50	75 R.C.	194
χ -hidroxi H metil		10	48 R.C.	194
χ -metilalil				
3-metil-2- H butenilo		50	38 R.C.	194
bencilo 2-tetrahidro piranilo		10	A.P. 17 C.R.	194

3-fluoro- bencilo	2-tetrahidro piranilo	10	19	C.R.	194
3-metil- 2-buteni lo	"	10	14	C.R.	194
3-metil- 2-buteni lo	metoxi-meti- lo	10	12	C.R.	194
3-metil- 2-buteni lo	H	10	11	C.R.	194
3-metil- 2-buteni lo	ciclohexilo	10	7	C.R.	194

R.C. retención de clorofila

ICR índice de retención de clorofila

A.P. aumento en peso (mg)

C.R. cotiledón de rábano

Tabla 6. Actividades citocinéticas de 2,N⁶-adeninas disus-
tituidas y adenosinas, concentración en μm , callo de taba-
co.

Compuesto	Concentración	
	Resp. detectable	Max. Rend.
Zeatina	2×10^{-4}	2×10^{-2}
2-cloro-zeatina	1×10^{-4}	7×10^{-3}
2-amino-zeatina	5×10^{-4}	2×10^{-2}
2-metiltio-zeatina	1×10^{-3}	4×10^{-2}
2-hidroxi-zeatina	5×10^{-2}	5×10^{-1}
2iP	5×10^{-4}	3×10^{-2}
2-cloro-2iP	5×10^{-4}	3×10^{-2}
2-amino-2iP	2×10^{-3}	1×10^{-1}
2-metiltio-2iP	2×10^{-3}	1×10^{-1}
2-hidroxi-2iP	4×10^{-2}	4×10^{-1}
2iPA	1×10^{-2}	4×10^{-1}
2-amino-2iPA	7×10^{-3}	4×10^{-1}
2-metiltio-2iPA	3×10^{-2}	1
2-hidroxi-2iPA	1×10^{-2}	2×10^{-1}

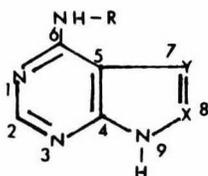
Tabla 7. Actividades relativas de adeninas disustituidas.

Compuesto	Resp. Detec.	Max. Rend.	Bioensayo	Ref.
1,7-dibenciladenina	.1 ^a	25 ^a	Callo Tabaco	172
	.5 ^f	25 ^f	" "	172
1,6-dibenciladenina	.5 ^{a,f}	12.5 ^{a,f}	" "	172
6-metil-1-benciladenina	12.5	62.5	" "	172
1,9-dibenciladenina	.1 ^a	2.5 ^a	" "	172
	2.5 ^f	25 ^f		

Tabla 8. Actividades relativas de adeninas trisustituidas.

Compuesto	Resp. Detec.	Max. Rend.	Bioensayo	Ref.
6-(3-metil-2-butenilamino)- 2-metiltio-9-B-D-ribofurano sil purina	.005	.7	Callo Tabaco	124
6-(3-metil-2-butenilamino)- 9-B-D-ribofuranosilpurina	.005	.7	" "	124
6-(3-metil-2-butenilamino)- 2-metiltiopurina	.002		" "	124
6-(3-metil-2-butenilamino)- purina	.0001		" "	124

Tabla 9. Actividades relativas de compuestos con anillos -
de purina modificados.



R	X	Y	Resp. Detec.	Max. Rend.	Bioensayo	Ref.
bencilo	N	N	.02 μ M	.5 μ M	Callo Tabaco	172
furfurilo	N	N	.1 mg/l	1 mg/ml	Zanahoria	200
furfurilo	N	N	.1 μ M	2 μ M	Callo Tabaco	172
furfurilo	S	N	inactivo			172
furfurilo	N	CH	inactivo			180

Tabla 10. Concentraciones en partes/10⁶ a las cuales las -
 fenil ureas y tioureas sustituidas de fórmula general ---
 RNHC(=NH)C₆H₅ mostraron actividad detectable.

R	X=O	X=S
H	75	n.a
n-propilo	33	n.a
bencilo	n.a	n.a
fenilo	0.5	33
2-tolilo	33	50
3-tolilo	0.6	20
4-tolilo	20	n.a
2,4-dimetilfenilo	n.a	n.a
3,4-dimetilfenilo	3	20
3-fluorofenilo	<1	<20
2-clorofenilo	33	n.a
3-clorofenilo	0.1	33
4-clorofenilo	0.1	n.a
3,4-diclorofenilo	3	<20
3-nitrofenilo	0.1	10
3-etoxifenilo	<1	33
2-piridilo	3	33
3-piridilo	1	33
4-piridilo	0.3	67
3-trifluorometilfenilo	<20	33
n.a no activa.		

Tabla 11. Concentraciones en partes/10⁶ a las cuales las ureas sustituidas de fórmula general RNHCONHR' mostraron actividad detectable.

R	R' = H	R' = C ₆ H ₅
metilo	n.a	1
etilo	n.a	10
1-propilo	n.a	33
1-butilo	n.a	67
1-dodecilo	n.p	n.a
alilo	n.a	33
bencilo	n.a	n.a
fenilo	75	0.5
ciclopropilo	n.p	33
trans-2-fenilciclopropilo	n.a	2
ciclohexilo	n.a	n.a
1-naftilo	10	67
2-naftilo	n.a	10
2-piridilo	13	3
3-piridilo	n.a	1
4-piridilo	n.a	0.3
5-indolilo	33	3
5-quinolilo	n.a	1
furfurilo	n.a	n.a
N-morfolinilo	n.a	67
pentafluorofenilo	n.p	20

n.a no activa

n.p no se probó

Tabla 12. Concentraciones en partes/10⁶ a las cuales las -
 ureas N,N' disustituidas y N monosustituidas; N,N' disusti
 tuídas mostraron actividad detectable.

Compuesto	Concentración
Fenil urea	75
N,N-difenil urea	n.a
N-fenil-N,N'-dimetil urea	n.a
N,N-difenil-N'-metil urea	n.a
N,N-difenil-N',N'-dimetil urea	n.a
N-fenil-N-metil,N' hidroxil urea	n.a
N,N-difenil-N',N' dietil urea	n.a
N,N' -difenil urea	0.5
N,N'-difenil-N'-metil urea	n.a
N,N'-difenil-N,N'-dimetil urea	n.a
N,N'-difenil-N'-hidroxil urea	n.a
4-clorofenil urea	<1
N-4-clorofenil-N'-fenil urea	0.1
N-4-clorofenil-N',N'-dimetil urea	33
3,4-diclorofenil urea	<1
N-3,4-diclorofenil-N'-fenil urea	3
N-3,4-diclorofenil-N',N'-dimetil urea	100
N-3,4-diclorofenil-N'-butil-N'-metil urea	20

Tabla 13. Concentraciones en partes/10⁶ a las cuales las -
 fenil ureas sustituidas de fórmula general R-C₆H₄NHCONHR'-
 mostraron actividad detectable.

R	R' H	R' C ₆ H ₅
H	75	0.5
2-metilo	n.a	33
3-metilo	20	0.6
4-metilo	100	20
2,3-dimetilo	n.a	10
2,4-dimetilo	n.a	33
2,5-dimetilo	n.a	n.p
2,6-dimetilo	n.a	33
3,4-dimetilo	n.a	3
3-fluoro	1	<1
4-fluoro	n.a	<1
2-cloro	20	33
3-cloro	3	0.1
4-cloro	<1	0.1
2-bromo	3	33
3-bromo	0.6	0.1
4-bromo	1	33
2-yodo	n.a	67
4-yodo	6	33
2,3-dicloro	3	67
2,4-dicloro	n.a	n.a

2,5-dicloro	33	33
3,4-dicloro	<1	3
3,5-dicloro	n.a	<1
2-nitro	67	1
3-nitro	33	0.1
4-nitro	10	0.2
3-cloro-4-metilo	33	<1
4-cloro-2-metilo	17	10
4-cloro-3-nitro	10	<1
4-metil-2-nitro	n.a	<1
4-metil-3-nitro	1	<1
3-metoxi	67	<1
2-metoxi-4-nitro	33	1
2-metoxi-5-nitro	50	<1
4-metoxi-2-nitro	33	10
2-carboxi	67	33
4-carboxi	n.a	1

Tabla 14. Actividades de fenil ureas disustituidas -----
 ($\text{XYC}_6\text{H}_3\text{NHCONHR}$) comparadas con sus fenil ureas respectivas
 monosustituidas.

XYC_6H_3	R=H	R= C_6H_5
3-cloro-4-metilfenil	33	<1
4-cloro-2-metilfenil	17	10
4-cloro-3-nitrofenil	10	1
2-metil-4-nitrofenil	n.a	10
2-metil-5-nitrofenil	33	3
4-metil-2-nitrofenil	n.a	<1
4-metil-3-nitrofenil	1	<1
4-nitro-3-trifluorometilfenil	20	<1
2-metoxi-4-nitrofenil	33	1
2-metoxi-5-nitrofenil	50	<1
4-metoxi-2-nitrofenil	33	10

XC_6H_4	R=H	R= C_6H_5
3-clorofenil	3	0.1
4-clorofenil	<1	0.1
2-tolil	n.a	33
4-tolil	100	20
4-nitrofenil	10	0.2
2-metoxifenil	n.a	1
4-metoxifenil	n.a	3

YC_6H_4	R=H	R=C ₆ H ₅
4-tolil	100	20
2-tolil	n.a	33
3-nitrofenil	33	0.1
4-nitrofenil	10	0.2
5-nitrofenil	33	0.1
2-nitrofenil	67	1
3-trifluorometilfenil	10	<1

Tabla 15. Concentraciones en partes/10⁶ a las cuales las ureas N monosustituidas y las ureas N,N' disustituidas --- RNHCONHR' muestran actividad.

R=	R' =	
2,4-dimetil fenil	hidrógeno	n.a
	fenilo	33
	2-tolil	n.a
	3-tolil	n.a
	4-tolil	n.a
	trans-2-fenilciclopropil	20
	4-clorofenil	65
	4-nitrofenil	100
	4-fluorofenil	n.a
	3,4-dimetilfenil	hidrógeno
fenilo		3
2-tolil		n.a
3-tolil		n.a
4-tolil		50
1-naftil		n.a
trans-2-fenilciclopropil		10
2-clorofenil		20
3-clorofenil		33
4-fluorofenil		10
4-clorofenil	67	
	3,4-diclorofenil	33

	4-etoxifenil	100
3,4-diclorofenil	hidrógeno	<1
	fenilo	3
	2-tolil	20
	3-tolil	33
	4-tolil	100
	trans-2-fenilciclopropil	3
	2-clorofenil	20
	3-clorofenil	10
	4-fluorofenil	3
	4-clorofenil	33
	4-bromofenil	50
	2,5-diclorofenil	67
	3,4-diclorofenil	2
	2-nitrofenil	n.a
	3-nitrofenil	10
	4-nitrofenil	n.a
	4-etoxifenil	n.a
	4-fenilazofenil	n.a

Tabla 16. Concentraciones en partes/10⁶ a las cuales las ureas N-monosustituidas, las N-fenil-N'-fenil sustituidas y N,N'-disustituidas simetricamente muestran actividad. --
Fórmula general RNHCONHR'.

R	R'=H	R'=C ₆ H ₅	R'=R
H	n.a	75	n.a
metilo	n.a	<1	n.a
fenilo	75	0.5	0.5
2-tolil	n.a	33	n.a
3-tolil	20	0.6	33
4-tolil	100	20	n.a
1-naftil	10	67	n.a
2-naftil	n.a	10	n.p
trans-2-fenilciclopropil	n.a	2	n.a
2-clorofenil	20	33	33
3-clorofenil	3	0.1	20
4-clorofenil	<1	0.1	50
4-fluorofenil	n.a	<1	20
4-bromofenil	1	33	n.a
2,5-diclorofenil	33	33	67
3,4-diclorofenil	<1	3	2
2-nitrofenil	67	1	50
3-nitrofenil	33	0.1	20
4-nitrofenil	10	0.2	67
4-etoxifenil	n.a	50	n.a

4-fenilazofenil	n.a	67	67
-----------------	-----	----	----

n.a sin actividad

n.p. no se probó

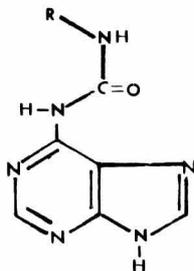
Tabla 17. Proporciones de N-fenil-N'-(fenil ureas sustituidas) Compuestos activos/total de compuestos probados.

Substituyente	orto	meta	para
metilo	11/19	14/18	8/19
cloro	13/18	17/19	13/19
nitro	5/19	15/19	12/19

Tabla 18. Actividades citocinéticas de 6-arilaminopurinas, 6-ureido purinas, difenil urea y algunos nucleósidos.

Compuesto	Concentración μ M	
	min. resp.	max. rend.
6-bencilaminopurina	.005	.05
cinetina	.007	.5
6-fenilaminopurina	.01	.1
6-fenilureidopurina	.05	.5
6-o-toliloureidopurina	.07	.7
6-m-clorofenilureidopurina	.2	2
6-p-tolilureidopurina	2	8
6-isopropilureidopurina	.7	6
6-n-propilureidopurina	2	9
6-alilureidopurina	.9	.8
6-N-etil-N'-fenilureidopurina	1	20
nucleósido de 6-bencilaminopurina	.007	.07
nucleósido de cinetina	.05	.2
nucleósido de 6-fenilaminopurina	.05	.3
nucleósido de 6-fenilureidopurina	.09	.9

Tabla 19. Actividades relativas de 6-ureidopurinas.



R	Cóncentración	Bioensayo	Peso fresco	Ref.
isoamilo	10 μ moles/l	C.F.S.	30 mg	222
alilo	1.5 " "	"	50 "	222
benciladenina	.1 " "	"	75 "	222
2-hidroxipropilo	inactivo	"		222
3-hidroxipropilo	inactivo	"		222

C.F.S. callo de frijol soya

BIBLIOGRAFIA.

- 1) Snow, W.H., New Phytol. 34, 347-360 (1935).
- 2) Faleg, A.G., Plant Physiol. 35, 293-99 (1960).
- 3) Pratt, H.K., Ann Rev. Plant Physiol. 20, 541-584 (1969)
- 4) Cathey, R., Ann Rev. Plant Physiol. 15, 271-302 (1964).
- 5) Dennis, et al Plant Physiol. 40, 949-952 (1965).
- 6) Addicott, F.T., Ann Rev. Plant Physiol. 20, 139-164 (1969).
- 7) Skoog, F., Science. 148, 532-33 (1965).
- 8) Letham, D.S., Life Sciences. 8, 569-73 (1963).
- 9) Audus, L.J., Plant Growth Substances. Vol. 1 Chemistry and Physiology. Leonard Hill. London (1972).
- 10) Haberlandt, G., Biol. Zentr. 42, 145 (1922).
- 11) Van Overbeek, J., Science. 94, 350 (1941).
- 12) Manney, J.R. Physiol. Plantarum. 5, 485 (1952).
- 13) Miller, C.O., J. Am. Chem. Soc. 78, 1375-1380 (1956).
- 14) Miller, C.O., J. Am. Chem. Soc. 77, 1392 (1955).
- 15) Miller, C.O., J. Am. Chem. Soc. 77, 2662 (1955).
- 16) Loeffler, J.H., Regulateurs naturels de la Croissance Vegetale (Colloque International, Gif-sur-Yvette, 1965). Centre National de la Recherche Scientifique Paris, pp 77-82.
- 17) Wilkins, M.B., Physiology of Plant Growth and

- Development. pp 83-123. Mc Graw Hill. London (1969).
- 18) Das, N.K., et al, Physiol. Plant. 9, 640-51 (1956).
 - 19) Guttman, R., Chromosoma. 8, 341-350 (1956).
 - 20) Guttman, R., Science. 131, 986-87 (1960).
 - 21) Maruzzella, J.C., Nature (Lond.) 200, 385 (1963).
 - 22) Coppola, S., Ann. Microbiol. Enzimol. 21 (1), 45-53 (1971) (CA 79:123374p).
 - 23) Ogawa, Y., Nature (Lond.) 180, 983-86 (1957).
 - 24) Scott, R.A., Jr. Plant Physiol. 31, 321 (1956).
 - 25) Kuraishi, S., Bot. Mag. Tokyo. 69, 817-18 (1956) (CA 51:98091i).
 - 26) Scott, R.A., Plant Physiol. 31, 321-322 (1956).
 - 27) Patau, K., Physiol. Plantarum. 10, 949-66 (1957).
 - 28) Skoog, F., Am. J. Bot. 35, 782-87 (1948).
 - 29) Miller, C.O., Am. J. Bot. 40, 768-73 (1953).
 - 30) Helgeson, J.P., Science. 161 (3845), 974-81.
 - 31) Skinner, C.G., J. Am. Chem. Soc. 77, 6692-93 (1955).
 - 32) de Ropp, R.S., Plant Physiol. 31, 253-4 (1956).
 - 33) Schrauldof, H., Nature, Lond. 184, 465-66 (1959).
 - 34) Harris Ann. Bot. N.S. 28, 509-26 (1964).
 - 35) Fires, N., Physiol. Plantarum. 13, 468 (1960).
 - 36) Chlyah, H., Biol. Plant. 15 (2), 80-7 (1973).
 - 37) Hashizume, T., Phytochemistry. 10, (11), 2653-5 (1972).

- 38) Skinner, C.G., Plant Physiol. 33, 190-94 (1958).
- 39) Miller, C.O., Plant Physiol. 31, 318 (1956).
- 40) Miller, C.O., Plant Physiol. 33, 115 (1958).
- 41) Haber, J.E., Plant Physiol. 32 (Suppl. XIIIX) (1957).
- 42) Khan, A.A., Physiol. Plant. 19 (4), 869-74 (1966).
- 43) Ginzburg, C.J., J. Exp. Bot. 24 (80), 558-66 (1973).
- 44) Khan, A.A., Physiol. Plant. 18, 41-43 (1965).
- 45) Haber, J.E., Plant Physiol. 35, 168-173 (1960).
- 46) Zeilanova, S.S., Dokl. Akad. Nauk. SSSR. 176 (4), 955-8 (1967) (CA 68:21076y).
- 47) Thimann, W.G., Am. J. Bot. 53, 731-39 (1966).
- 48) Worsham, A.D., Science 130, 1654-56 (1959).
- 49) Kende, H. Science. 145, 1)66-67 (1964).
- 50) Kurz, L., J. Naturwiss. 44, 121 (1957).
- 51) Weaver, G.J., Nature Lond. 198, 207-8 (1965).
- 52) Reid, D.M., Experientia. 24 (2), 189-90 (1968).
- 53) Browning, G., J. Hort Sci. 48 (3) 297-310 (1973).
- 54) Sachs, A.S., Nature (Lond.) 201, 939-40 (1964).
- 55) Wickson, M., Physiol. Plant. 11, 62-74 (1958).
- 56) Klämbt, D., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 56, 52-59 (1966).
- 57) Richmond, A.E., Science. 125, 650 (1957).
- 58) Mothes, K., Regulateurs Naturels de la Croissance

- Vegetale. The role of Kinetin in plant regulation.
pp. 131-40 (1965).
- 59) Kulaeva, O.N., Tsitologiya. 12 (2), 251-3 (1970)
(CA 73:21450u).
- 60) Krul, W.R., Biochem. Physiol. Plant Growth Subst.
pp. 1145-53. Runge Press, Ottawa (1967).
- 61) Railton, I.D., Planta. 111 (3), 261-66 (1973).
- 62) Młodzianowski, F., Protoplasma. 76 (2), 211-26
(1973). (CA 79:28250m).
- 63) Smith, O.E., Physiol. Plantarum. 23, 599-606 (1970).
- 64) Miller, C.O., Ann. Rev. Plant Physiol. 12, 395
(1961).
- 65) Dezsı, L., Bot. Közlem. 54 (2), 73-7 (1967)
(CA 68:21072u).
- 66) Dezsı, L., Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 19 (1) 43-8
(1968) (CA 68:77072m).
- 67) Maciejewska, W., Nature. 184, 557 (1959).
- 68) Babadžhanova, M.A., Dokl. Akad. Nauk. Tadzh. SSR.
14 (8), 62-4 (1971) (CA 76:109070t).
- 69) Feng, K.A., Plant Physiol. 51 (5), 868-70 (1973).
- 70) Luke, H.H., Nature. 217 (5131), 873-4 (1968).
- 71) Luke, H.H., Nature. 215 (5103) 874-5 (1967).
- 72) Luke, H.H., Phytopatology. 58 (2), 258-9 (1968).
(68:86320t).
- 73) Livne, A., Physiol. Plant. 18, 658 (1965).

- 74) Mothes, K., Phytochemistry. 1, 58-62 (1961).
- 75) Mothes, K., Colloq. Intern. Centre Natl. Rech. Sci.
(Paris) 123, 131 (1964).
- 76) Steward, F.C., Phytochemistry. 12, 2335-39 (1973).
- 77) Ween, H., Plant Physiol. 44 (9), 1277-84 (1969).
- 78) Milo, G.B., Vyrology. 39 (3), 621-3 (1969).
- 79) Lovrekovich, L., Nature. 138, 710 (1963).
- 80) Mosbe, T., Plant Physiol. 46 (3), 367-72 (1970).
- 81) Michael, G., Flora (Jena), Abt. A. 160 (4), 306-16
(1969) (CA 71:120497e).
- 82) Engelbrecht, L., Biochem. Physiol. Pflanz. 162 (1),
9-27 (1971) (CA 74:95627z).
- 83) Kiraly, Z., Phytopatology. 57 (1), 93-4 (1967).
- 84) Abou Mandour Z., Pflanzenphysiol. 65 (3) 240-7
(1971) (76:1894a).
- 85) Dekker, J. Nature. 197, 1027-28 (1963).
- 86) Guern, Comp. Rend. Acad. Sci. Paris. 262, 2226-29
- 87) Sweykowska, A., J. Exptl. Botany. 14, 137 (1963).
- 88) Goldacre, Nature, Lond. 184, 555-6 (1959).
- 89) Letham, D.S., Proc. Chem. Soc. 230-31 (1964).
- 90) Miller, C.O., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 54, 1052
(1965).
- 91) Letham, D.S., Annu. Rev. Plant Physiol. 18, 349-64
(1967).
- 92) Hall, R.H., Science. 156, 69 (1967).

- 93) Gupta, G., Plant Physiol. 45 (1) 14-18 (1970).
- 94) Kende, H., Ann. N.Y. Acad. Sci. 144, 235-43 (1967).
- 95) Shaw, G., Proc. Chem. Soc. 231 (1964).
- 96) Letham, D.S., Phytochemistry. 12, (10), 2445-55 (1973).
- 97) Nitsch, J.P., SCI (Soc. Chem. Ind., London) Monogr. 1968, No. 31, 111-23.
- 98) Skene, K.G., Plant Growth Subst., Proc. Int. Conf. 7th 1970 (pub. 1972) 476-83. Ed. by Carr, D.J. NY.
- 99) Miller, C.O., Science. 157, 1055-57.
- 100) Letham, D.S., Physiol. Plant. 22, 925-36 (1969).
- 101) Zear, J.A., Aust, J. Biol. Sci. 23 (2), 289-97 (1970).
- 102) Miller, C.O., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 71 (2) 334-8 (1974).
- 103) Miller, C.O., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 72 (5), 1883-86 (1975).
- 104) Horgan, R., Plant Sci. Lett. 1 (8) 321-4 (1973).
- 105) Nitsch, J.P., Ann. N.Y. Acad. Sci. 144 (1) 279-94 (1967) (CA 67:107538s).
- 106) Letham, D.S., Life Sci. 5, 551-4 (1966).
- 107) Letham, D.S., Life Sci. 5, 1999-2004 (1966).
- 108) Letham, D.S., Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances pp. 19-30. Runge Press, Ottawa.
- 109) Prakash, R., Physiol Plant. 23, 792-9 (1970).

- 110) Koshimizu, K., Tetrahedron Lett. 14, 1317-20 (1967).
- 111) Cavé, A., Bull. Soc. Chim. France. 896 (1959)
(CA 54:6774a).
- 112) Monseur, J., Pharm. Belg. 279 (1960) (CA 56:3529a).
- 113) Belikov, A.S., Zheir. Obsch. Khim. 24, 919 (1954).
(CA 55:20100).
- 114) Beauchesne, G., Physiol. Plantarum. 16, 63C (1963).
- 115) Leonard, N.J., J. Am. Chem. Soc. 84, 2148 (1962).
- 116) Robins, M.J., Biochemistry. 6, 1837 (1967).
- 117) Townsend, J., Am. Chem. Soc. 86, 5320 (1964).
- 118) Hall, R.H., J. Am. Chem. Soc. 88, 2614 (1966).
- 119) Zachau, H.G., Angew. Chem. 78, 392 (1966).
- 120) Madison, J.T., J. Biol. Chem. 242, 1318 (1967).
- 121) Hall, R.H., Can. J. Biochem. 49, 623-30 (1971).
- 122) Wareing, P.F. The control of growth & differentiation in plants. Pergamon Press. Oxford (1970).
- 123) Miller, C.O., Science. 157, 1055 (1967).
- 124) Burrows, W.J., Biochemistry. 8 (7), 3071 (1969).
- 125) Pedersen, M., Physiol. Plant. 28 (1), 101-5 (1973).
- 126) Wood, H.N., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 62, 349-56
(1969).
- 127) Wood, H.N., Rég. Nat. Croiss. Vég. 97 (1964) Paris.
- 128) Wood, H.N., L. Ann. N.Y. Acad. Sci. 144, 244-50
(1967).
- 129) Wood, H.N., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 67, 1283-87

- (1970).
- 130) Wood, H.N., Proc. Natl Acad. Sci. U.S. 69, 403-6
(1972).
- 131) Kessler, B., Plant Physiol. 34, 605-8 (1959).
- 132) Kessler, B., Nature. 181, 1595-6 (1958).
- 133) Hecht, S.M., Science. 166, 1272 (1969).
- 134) Dunn, D.B., Nature. 175, 336-37 (1955).
- 135) Dunn, D.B., J. Mol. Biol. 2, 113-17 (1960)
(CA 54:21305a).
- 136) Kuraishi, S., Sci. Papers Coll. Gen. Educ., Univ.
Tokyo. 9, 67-104 (1959) (54:4781c).
- 137) Shantz, E.M., J. Am. Chem. Soc. 74, 6133-35 (1952).
- 138) Shantz, E.M., J. Am. Chem. Soc. 77, 6351-53 (1955).
- 139) Most, J., Chromatog. 38, 136-8 (1968).
- 140) Upper, C.D., Plant Physiol. 45 (5), 543-7 (1970).
- 141) Tegley, J.R., Plant Physiol. 47 (4), 581-5 (1971).
- 142) Carr, D.J. (ed). Plant Growth Substances. Proc. Int.
Conf. 7th 1970, pp 790-7 (pub. 1972).
- 143) Ver ref. 142, pp 798-807
- 144) Shannon, J.S., N.Z.J. Sci. 9 (4), 833-42 (1966)
(CA 66:94577f).
- 145) Hemberg, T., Physiol. Plant. 28 (2), 228-31 (1973).
- 146) Menhenett, R., Aust. J. Biol. Sci. 26 (5) 1073-80
(1973).
- 147) Hussain, A., Nature (London). 223 (5205) 504-5
(1969).

- 148) Blumenfeld, A., Plant Physiol. 46 (2), 331-3 (1970).
- 149) Letham, D.S., Physiol. Plant. 22, 925-36 (1969).
- 150) Ver ref. 142, pp. 561-70
- 151) Hall, R.H., Annu. Rev. Plant Physiol. 24, 415-44 (1973).
- 152) Onckelen, R.V., Naturwiss. 52 (20), 561-2 (1965) (CA 64:1276b).
- 153) Rothwell, K., Proc. R. Soc. 167, 202 (1967).
- 154) Hamzi, H.Q., Proc. Nat. Acad. Sci., Wash. 51, 76-83 (1964).
- 155) Weaver, R.J., Plant Growth Substances in Agriculture W.H. Freeman & Co. 1972 San Francisco.
- 156) Seth. Life Sci. 4, 2275-80 (1965).
- 157) Letham, D.S., Planta. 74, 228-42 (1968).
- 158) Fawcett, C.H., Phytochemistry. 7 (10), 1719-25 (1968).
- 159) Biddington, N.L., Planta. 111 (2), 1968 (1973).
- 160) Bigot, C., C.R. Acad. Sci., Paris, Ser. D 266 (4), 349-52 (1968) (68:77081p).
- 161) Elliot, D.C., Plant Growth Substances. 1970 pag. 459. Springer Berlin.
- 162) Conrad, K., Naturwiss Reike. 1966 (pub. 1967) 16 (4-5), 657-9.
- 163) Miller, C.O., Fl. Physiol. Lancaster. 34, 577-9 (1959)

- 164) Letham, D.S., N.Z.J. Bot. 1, 336-50 (CA 61:8310d).
- 165) Caplin, S.M., Science. 108, 665 (1948).
- 166) Narain, A.Z., Pflanzenphysiol. 71 (4), 313-22 (1974)
(CA 79:116987h).
- 167) Szweykowzka, A., Acta Soc. Bot. Pol. 31, 553-7.
- 168) Nitsch, J.P., Bull. Soc. Bot. Fr. 113 (9), 425-9
(1966) (CA 68:19522x).
- 169) Bentley, J.A., Ann. Bot. (London). 32 (125), 23-32
(1968).
- 170) Osborne, Pl. Physiol. Lancaster. 36, 219-21 (1961).
- 171) Skoog, F., Ann. Rev. Plant Physiol. 21, 359-84
(1970).
- 172) Skoog, F., Phytochemistry. 6 (9), 1169-92 (1967).
- 173) Shaw, G., Phytochemistry. 10 (10), 2329-36 (1971).
- 174) Skoog, F., Biochem. Physiol. Plant Growth Subst.
Proc. Int. Conf. Plant Growth Subst., 6th. pp 1-18
1967. Runge Press. Ottawa (1968).
- 175) Okumura, F.S., Bull Chem. Soc. Japan. 32, 886
(1959)
- 176) Skoog, F., Annu Rev. Plant Physiol. 21, 359-84 (1970).
- 177) Fleisher, M., J. Med. Chem. 15 (2) 187-91 (1972)
(CA 76:135 537v).
- 178) Munsche, D. Flora (Jena) Abt. A. 159, 268-73 (1963)
(CA 69:66 305j).
- 179) Hall, R., Life Sci. 7, 7-13 (1968).

- 180) Strong, F.E., in Topics in Microbial Chemistry.
pp 97-157. Wiley. New York (1958).
- 181) Letham, D.S., Phytochemistry. 10 (1) 23-8 (1971).
- 182) Koshimizu, K., Phytochemistry. 7 (11) 1989-94 (1968).
- 183) Hamzi, H.Q., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 51, 76-83
(1964).
- 184) Leonard, N.J., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 51, 73-75
(1964).
- 185) Leonard, N.J., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 56, 709-16
- 186) Wogozinska, J.H., Physiol. Plantarum. 17, 165 (1964).
- 187) Sood, C.K., Diss. Abstr. Int. B. 30, (12) (Pt. 1)
5389-90 (1970).
- 188) Weaver, R.J., Nature. 206, 952 (1965).
- 189) Fox, J.E., Phytochemistry. 12 (7), 1531-3 (1973).
- 190) Fende, H., Plant Physiol. 43, 1244 (1968).
- 191) Fox, J.E., Biochemistry and Physiology of plant growth
substances. pp. 777-89. Runge Press. Ottawa.
- 192) Montgomery, J.A., J. Am. Chem. Soc. 83, 630 (1961).
- 193) Shaw, G., Experientia. 24, 1089-90 (1968).
- 194) Young, H., Phytochemistry. 8, 1199 (1969).
- 195) Ver ref. 142, pp. 449-58.
- 196) Benes, J., Nature. 206, 830 (1965).
- 197) Fox, J.E., Plant Physiol. 47, 275 (1971).
- 198) Kulaeva, G.N., Fiziol. Aktiv. Veshchestva. 2, 136-44
(1969) (CA 72:129 054m).

- 199) Hecht, S., Phytochemistry. 9 (6), 1173-80 (1970).
- 200) Steward, F.C., Synthesis of molecular and cellular structure, 19th Growth Symposium. Rudnick, D. (ed). pp 193-26. Ronald Press. N.Y. (1961).
- 201) Hecht, S.M., Phytochemistry. 9 (9) 1907-13 (1970).
- 202) Rogozinska, J.H., Phytochemistry. 12, 2087-92 (1973).
- 203) Yasuyoshi, T., Phytochemistry. 11 (5), 1623-30 (1972).
- 204) Brauniger, H., Arch. Pharmazie. 299, 193 (1966).
- 205) Kuraishi, S., Physiol. Plantarum. 20, 208 (1967).
- 206) Pozsar, B.I., Life. Sci. (Oxford). 7 (14) (Pt. 2), 699-704 (1968) (CA 69:66 307m).
- 207) Koehler, K.H., Flora (Jena), Abt. A. 159, 293-8 (1968) (CA 69:65 105g).
- 208) Schruft, G.Z., Planzenkr. Planzenschutz. 78 (5), 280-5 (1971) (CA 79:62 518q).
- 209) Yamada, N., Proc. Crop. Sci. Soc. Japan, 32, 254-8
- 210) Lloyd, Can. J. Chem., 45, 2213-6 (1967).
- 211) Ringe, F., Experientia. 28 (2), 234-5 (1972).
- 212) Mashtakov, S.M., Fiziol. Biokhim. Kul't. Rast. 3 (5) 474-8 (1971) (CA 76:69 087v).
- 213) Kessler, B., Ktavim. 9, 265-74 (1959) (CA 54:7049a).
- 214) Kessler, B., Ktavim. 9, 261-3 (1959) (CA 54:7048h).
- 215) Kefford, M.P., Phytochemistry. 12 (5), 995-1003- (1973).

- 216) Vassilev, G., C.R. Acad. Bulg. Sci. 20 (5), 477-80
(1967) (CA 67:52 920c).
- 217) Karanov, E., Fiziol. Rast. 15 (3), 430-5 (1968)
(CA 69:34 824m).
- 218) Vasilev, G.N., Dokl. Bolg. Akad. Nauk. 26 (3), 391-4
(1973) (CA 79:74 819b).
- 219) Karanov, E., Izv. Indt. Fiziol. (Bulg) (CA 63:17 055f).
- 220) Robins, R.K., J. Am. Chem. Soc. 83, 2574 (1961).
- 221) Nagasawa, N.J., J. Org. Chem. 31, 2685 (1966).
- 222) Dyson, W.H., Science. 170 (3955), 328-30 (1970).
- 223) Mc Donald, S., Phytochemistry. 10, 1429 (1971).
- 224) Bruce, M.I., Proc. Roy. Soc. (London) Ser B. 165 (999),
245-65 (1966).
- 225) Schmitz, R.Y., Phytochemistry. 10, 275 (1971).
- 226) Osborne, J.D., Nature. 201 (4914), 97 (1964).
- 227) Szekeres, G.L., Journal of Heterocyclic Chemistry. 12,
15-19 (1975).
- 228) Markin, B.T., Tr. Stavropol. Sel.- Khoz. Inst. No. 14
68-72 (1965) (CA 67:2926p).
- 229) Starova, N.A., Akad Nauk. Uz. SSR. 3, 243-9 (1961)
(CA 57:14 223d).
- 230) Karanov, E., Dokl. Akad. Nauk. SSSR. 156 (4), 957-60
(1964) (CA 61:7627h).
- 231) Karanov, E., C.R. Acad. Bulg. Sci. 20 (4), 365-8
(1967) (CA 67:52 913c).
- 232) Dyson, W.H., Plant Physiol. 49, 506 (1972).