

MAREK GNIAZDOWSKI

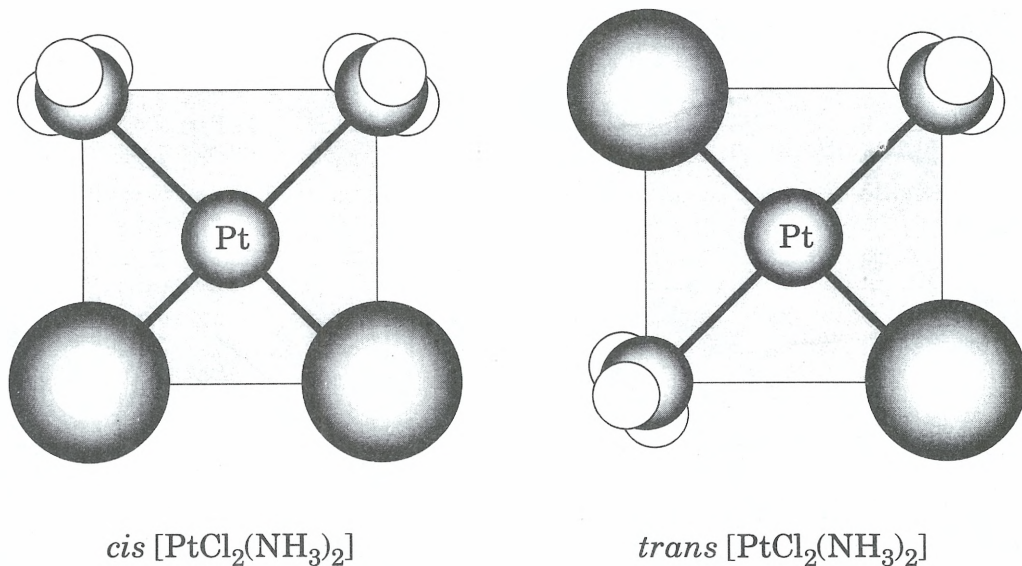
Zakład Chemii Ogólnej Instytutu Fizjologii i Biochemii, Akademia Medyczna w Łodzi,
ul. Lindleya 6, 90-131 Łódź

STEREOIZOMERIA A EFEKT BIOLOGICZNY NA PRZYKŁADZIE CISPLATYNY

Opowiada się, że Barnettowi Rosenbergowi, biofizykowi z Uniwersytetu Stanowego Michigan, obraz wrzeciona mitotycznego kojarzący się z liniami pola nasunął myśl zbadania wpływu pola na wzrost *Escherichia coli*. Stosując elektrody platynowe stwierdził zahamowanie wzrostu bakterii. To samo doświadczenie powtórzone z elektrodami miedzianymi dało wynik negatywny. Gdy poszedł tym tropem okazało się, że w pierwszym doświadczeniu powstaje znany od połowy ubiegłego wieku, koordynacyjny związek platyny, diaminedichloroplatyna(II), który jest odpowiedzialny za obserwowany efekt (ROSENBERG i współaut. 1965). Cząsteczki diaminedichloroplatyny charakteryzują się układem płaskokwadratowym z atomem centralnym w stanie hybrydyzacji sp^2d . Taka geometria warunkuje występowanie substancji po-

staci dwóch stereoizomerów (ryc. 1) z jednakowymi ligandami położonymi w przyległych (cisplatylna) lub w przeciwległych wierzchołkach kwadratu (transplatylna).

Izomery te różnią się aktywnością biologiczną. Tylko izomer cis ma aktywność przeciwnowotworową i wprowadzony do terapii stał się jednym z podstawowych leków (ROSENBERG 1978, LIPPARD 1982, PINTO i LIPPARD 1985). Powiązanie aktywności biologicznej izomerów z ich strukturą stanowi obiekt zainteresowania wielu badaczy. Odsyłając do obszernych opracowań polskich (KUDUK-JAWORSKA 1984, OLIŃSKI i ZASTAWNY 1991, ZASTAWNY i OLIŃSKI 1993) ograniczam się tutaj do najnowszych badań wskazujących na różnice między izomerami obserwowane na poziomie molekularnym.



Ryc. 1. Struktura cisplatiny i transplatiny.

Warto zwrócić uwagę, że położenie wiązań łączących atom centralny z ligandami w jednej płaszczyźnie warunkuje istnienie izomerów. Gdyby hybrydyzacja była sp^3 , jak na przykład atomu węgla w cząsteczce CH₂Cl₂ — ligandy znajdowałyby się w narożach czworościanu a izomeria nie byłaby możliwa.

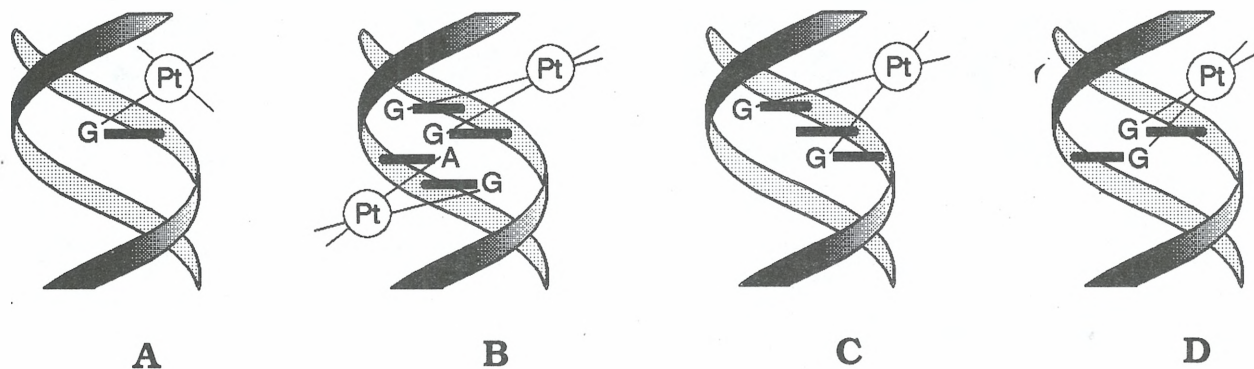
KOMPLEKSY DIAMINEDICHLOROPLATYNY(II) Z DNA

Większość cisplatyny wiąże się w komórce z grupami -SH białek i związków drobnocząsteczkowych (glutation) oraz z RNA. Krytyczne jednak dla efektu cytotoksycznego jest wiązanie leku z DNA (por. FICHTINGER-SCHEPMAN 1993). Równoważny efekt cytotoksyczny w stosunku do cisplatyny w przypadku komórek HeLa uzyskuje się przy ponad 5-krotnie większej ilości transplatyny związanej z DNA (PASCOE i ROBERTS 1974). W reakcji z DNA podstawieniu ulegają jony chlorkowe. Przeważającymi ilościowo produktami reakcji cisplatyny z DNA, zarówno w komórce jak i w izolowanym DNA, są dwufunkcyjne addukty wewnątrz tej samej nici DNA. Łączą one sąsiadujące zasady purynowe: najczęściej guaniny rzadziej adeninę i guaninę (ryc. 2), przy czym miejscem podstawienia są atomy N7 pierścienia purynowego. Ten typ wiązania odróżnia cisplatynę od nieaktywnego izomeru. Odległość między jonami chlorkowymi w cisplatynie wynosi 0,33 nm. Odpowiada to w przybliżeniu odległości między sąsiadującymi zasadami w tym samym łańcuchu. W transplatynie odległość między ligandami Cl⁻ (ryc. 1) wynosi około 0,45 nm. Wewnątrznicowe wiązanie transplatyny jest możliwe zatem między dwoma purynami oddalonymi od siebie co najmniej o jedną zasadę (OLIŃSKI i ZASTAWNY 1991, nowsze piśmiennictwo por. FICHTINGER-SCHEPMAN i współaut. 1995). Obok tych wiązań zarówno cisplatyna jak i transplatyna tworzą wiązania międzynicowe. O ile jednak pierwsza tworzy je między guaninami (LEMAIRE i współaut. 1991) (ryc. 2), to w przypadku transplatyny sugeruje się wiązania między komplementarnymi zasadami, guaniną i cytozyną (BRABEC i LENG 1993). Cisplatyna i transplatyna mogą tworzyć wiązania krzyżowe DNA-białko i wiązania jednofun-

kcyjne z DNA (ryc. 2). Te ostatnie stanowią formę przejściową w powstawaniu wiązań dwufunkcyjnych (OLIŃSKI i ZASTAWNY 1991, FICHTINGER-SCHEPMAN i współaut. 1995). Spośród omawianych największe znaczenie dla aktywności farmakologicznej cisplatyny przypisuje się wiązaniom wewnątrznicowym między sąsiadującymi zasadami guanina-guanina (GpG) lub adenina-guanina (ApG). Jest to bowiem ten typ kompleksu, który różni lek od nieaktywnego izomeru.

Wiązanie wewnątrznicowe powoduje zakrzywienie osi heliksu w kierunku większego rowka. Wiele danych (MARROT i LENG 1989), w tym wyniki badań krystalograficznych (TAKAHARA i współaut. 1995), wskazuje, że zasady, chociaż w miejscu modyfikacji skrócone w stosunku do siebie niby płyty śmigła, pozostają połączone wiązaniami wodorowymi. Odcinki DNA wokół adduktu różnią się konformacją. Fragment dwuniciowej struktury z końca 5' wiązania cisplatyny jest zbliżony do struktury A-DNA, podczas gdy część heliksu granicząca z końcem 3' zmodyfikowanej sekwencji ma strukturę zbliżoną do B-DNA (TAKAHARA i współaut. 1995).

Celem wyjaśnienia różnic cytotoksyczności izomerów wysunięto kilka niewykluczających się wzajemnie hipotez (MELLO i współaut. 1995). W myśl jednej z nich transplatyna w mniejszym stopniu wiąże się z DNA, bowiem ulega inaktywacji przez związki zawierające grupy -SH, na przykład przez glutation. W drugiej hipotezie zwraca się uwagę na fakt, że transplatyna powoduje większe odkształcenie heliksu DNA niż izomer cis-. Jest zatem łatwiej rozpoznawana i wycinana przez układy reperacyjne komórki. Trzecia hipoteza opiera się o fakt, że cisplatyna



Ryc. 2. Schematy wiązania cisplatyny z DNA.

A — monoaddukt; B — diaddukty wewnątrz nici z sąsiadującymi zasadami; C — diaddukt wewnątrz nici między zasadami oddzielnymi; D — diaddukt międzynicowy.

blokuje komórki L-1210 w fazie G2 cyklu komórkowego i następnie indukuje apoptozę (SO-RENSON i EASTMAN 1988). Proponowany mechanizm polegałby na ogólnym hamowaniu trans-

krypcji lub specyficznym blokowaniu ekspresji genu czy genów niezbędnych dla uruchomienia mitozy.

WŁAŚCIWOŚCI MATRYCOWE KOMPLEKSU DNA Z CIS- I TRANSPLATYNA

Porównanie wpływu cisplatyny i transplatyny na właściwości matrycowe DNA dostarcza argumentów na rzecz tej ostatniej hipotezy. Hamowanie syntezy DNA i RNA przez związki platyny w hodowlach komórkowych zaobserwowano we wczesnych badaniach mechanizmu działania leku (por. ROSENBERG 1978, OLIŃSKI i ZASTAWNY 1991). W pierwszych doświadczeniach w układzie subcelularnym stwierdzono paradoksalnie większy efekt transplatyny niż cisplatyny na reakcję katalizowaną przez bakteryjną polimerazę RNA zależną od DNA (MILLER i współaut. 1983). Doświadczenia te, nie uzupełnione o oznaczenia platyny związanej z DNA, miały ograniczone znaczenie. Ostatnio badania wpływu cisplatyny i transplatyny na układ syntezy RNA *in vitro* podjęto z uwzględnieniem złożoności tego procesu a publikacje ich wyników zbiegły się z publikacją komplementarnych badań z polimerazami DNA zależnymi od DNA.

Reakcja katalizowana przez polimerazę RNA jest procesem wieloetapowym, w którym można doświadczalnie wyróżnić wiązanie enzymu z matrycą, inicjację syntezy łańcucha RNA, następnie elongację oraz terminację i w końcu dysocjację trójczłonowego kompleksu zawierającego polimerazę RNA, DNA i nowo syntezowany łańcuch RNA.

Addukty cisplatyny, podobnie jak inne leki wiążące się dwufunkcyjnie a także duże monoaddukty, w mniejszym stopniu wpływają na wczesne etapy transkrypcji niż na elongację (por. GNIAZDOWSKI 1994, GNIAZDOWSKI i CERA 1996). W doświadczeniach z syntetycznymi polideoksyrybonukleotydami, zawierającymi przyłączoną dwufunkcyjnie cisplatynę do sekwencji GpG lub ApG w miejscu inicjacji wykazano, że zarówno polimeraza bakteryjna (z *E. coli*), jak i polimeraza RNA II eukariotyczna (z kielków pszenicy) może wiązać się ze zmodyfikowanym odcinkiem DNA i, w ograniczonym stopniu, inicjować syntezę łańcucha (CORDA i współaut. 1992). Porównanie tych dwóch sekwencji nie było przypadkowe, bowiem z wcześniejszych badań wynikało, że wiązanie każdej z nich z cisplatyną daje różniące się konformacją zaburzenia heliksu DNA (MARROT i LENG 1989, SCHWARTZ i współaut. 1989). Istotnie, wiązanie polimerazy RNA z matrycą o zmodyfikowanej sekwencji GpG jest obniżone, podczas gdy po-

winowactwo enzymu do polinukleotydu o sekwencji ApG związanej z cisplatyną jest takie samo, jak do polinukleotydu nie modyfikowanego (CORDA i współaut. 1992). Przyłączenie pojedynczego nukleotydu do dinukleotydu, odpowiadające reakcji inicjacji łańcuchów RNA, zachodzi wolniej na sekwencjach GpG lub ApG związanych z cisplatyną. Obserwacje te dotyczą inicjacji przebiegającej na nici zmodyfikowanej. Jeśli inicjacja następowała na drugiej nici, na przeciw adduktu, obserwowano stymulację (CORDA i współaut. 1991, 1993). Porównano inicjację naprzeciw adduktów cisplatyny i transplatyny związanych z sekwencją GpTpG a więc łączących reszty guaniny oddzielone od siebie jedną zasadą. Nieaktywny izomer trans stymuluje tę inicjację w większym stopniu (CORDA i współaut. 1993).

Wpływ wewnątrzniowego diadduktu cisplatyny zaznacza się przede wszystkim wtedy, gdy enzym napotyka na niego w fazie wydłużania (elongacji) łańcucha polinukleotydowego w odległości kilkunastu nukleotydów od miejsca startu. Taki diaddukt, zarówno połączony z sekwencją ApG, jak i GpG, blokuje polimerazę bakteryjną i polimerazę eukariotyczną. Podobnie jak i inne addukty (GNIAZDOWSKI 1994, GNIAZDOWSKI i CERA 1996) cisplatyna w niewielkim tylko stopniu hamuje syntezę RNA przebiegającą na komplementarnej w stosunku do zmodyfikowanej nici DNA (CORDA i współaut. 1991, 1993).

Jak wspomniano obok diadduktów łączących sąsiednie zasady (GpG i ApG) cisplatyna tworzy wewnątrzniowe wiązania w sekwencji GpXpG (gdzie X dowolny nukleotyd) między skrajnymi zasadami oraz wiązania międzynieciowe między guaninami w obrębie komplementarnej sekwencji GpC/GpC. Obydwa typy adduktów blokują polimerazę RNA *E. coli* i polimerazę RNA II. Natomiast diaddukt transplatyny między skrajnymi resztami guaniny w sekwencji GpTpG a także addukt jednofunkcyjny nie stanowiły nieprzekraczalnej przeszkody dla obydwu enzymów (CORDA i współaut. 1993). W podobny sposób zachowują się polimerazy RNA faga T7 i SP6, stosowane do mapowania adduktów platyny na DNA (BRABEC i LENG 1993, CULLINANE i współaut. 1993, DECOVILLE i współaut. 1993).

Prokariotyczne i eukariotyczne polimerazy DNA zatrzymują się na wewnątrznicowych diadduktach cisplatyny (VILLANI i współaut. 1988). Porównanie kilku polimeraz DNA wykazało, że to blokowanie nie jest całkowite (COMESS i współaut. 1992). Zależy to w znacznej mierze od aktywności nukleazowej 3'---5' polimerazy DNA, a więc aktywności korygującej błędy w replikacji. Zależy także od struktury adduktu. Cisplatyna połączona z sekwencją GpG jest silniejszą barierą niż połączona z sekwencją ApG, z kolei ten addukt hamuje silniej niż addukt wiążący skrajne guaniny w sekwencji GpCpG (COMESS i współaut. 1992). Różnice zależą też od sekwencji otaczających addukty. W innym otoczeniu cisplatyna związana z sekwencją ApG jest silniejszą barierą niż związana z sekwencją GpG (BELGUISE-VALLADIER i współaut. 1994). Enzym o niższej aktywności nukleazowej 3'---5' (polimeraza I *E. coli*, fragment Klenowa) lub zmodyfikowana, pozbawiona tej aktywności polimeraza T7 (sequenase 2.0) o wiele łatwiej przechodzą przez addukt niż polimeraza III *E. coli* i polimeraza faga T4 charakteryzujące się znaczną aktywnością nukleazową (COMESS i współaut. 1992). Wydaje się to być regułą w przypadku innych typów adduktu — enzymy mniej „krytyczne” łatwiej przechodzą przez miejsca zawierające addukty (BELGUISE-VALLADIER i współaut. 1994, HOFFMANN i współ-

aut. 1995). Natomiast dla wszystkich badanych enzymów wewnątrznicowe diaddukty transplatyny są o wiele łatwiejsze do przejścia (COMESS i współaut. 1992).

Ostatnio dane o różnicach hamowania polimerazy RNA przez wewnątrznicowe addukty cisplatyny i transplatyny w układach bezkomórkowych uzyskały potwierdzenie w układach komórkowych (MELLO i współaut. 1995). Komórki ludzkie i chomika syryjskiego były transfekowane niereplikującym plazmidem noszącym gen β -galaktozydazy o różnym stopniu modyfikacji cis- albo transplatyną. Zarówno pomiary aktywności β -galaktozydazy, jak i transkryptu genu wskazują na to, że istotnie cisplatyna w znacznie większym stopniu blokuje syntezę RNA. W porównaniu z transplatyną czterokrotnie niższa liczba adduktów cisplatyny blokuje elongację łańcuchów RNA o 63%. Liczba ta wynosi około 0,4 na 10^3 nukleotydów DNA (MELLO i współaut. 1995) i jest bliska gęstości innych adduktów hamujących w takim samym stopniu polimerazę RNA w układzie bezkomórkowym (GNIAZDOWSKI i CERA 1996). Badania te pozwalają na wniosek, że praktycznie każdy addukt cisplatyny blokuje polimerazę RNA II. Stosując odpowiednie mutanty komórek stwierdzono, że wyniku tego nie należy wiązać z repacją adduktów transplatyny (MELLO i współaut. 1995).

UWAGI KOŃCOWE

Selektywny efekt cisplatyny na proces transkrypcji być może nie ogranicza się do etapu syntezy łańcucha RNA. MYMRYK i współautorzy (1995) stwierdzili, że cisplatyna hamuje wiązanie czynnika transkrypcyjnego z promotorem wirusowego DNA w znacznie większym stopniu niż transplatyna.

Gdy szuka się wyjaśnienia efektów biologicznych w prostych układach molekularnych nasuwa się pytanie, czy te ostatnie stanowią dostatecznie dobre przybliżenie sytuacji w żywej komórce lub w organizmie. Urok bowiem układów biologicznych polega na nieograniczonej liczbie artefaktów, którym można poświęcić życie (tę uwagę zawdzięczam drowi Z. Tókesowi, Los Angeles, Kalifornia). Przytoczone doświadczenia stanowią potwierdzenie różnego efektu leku i nieaktywnego izomeru na funkcję polimerazy RNA i w pewnym stopniu polimeraz DNA. Enzymy te, jeśli przyjąć, że wiązanie cis-platyny z DNA jest wydarzeniem krytycznym dla jej działania, są przez lek blokowane. Postulowany mechanizm działania leku polegający na hamowaniu transkrypcji (SORENSEN i EASTMAN 1988)

jest wsparty wynikami porównania wpływu cisplatyny i nieaktywnego izomeru na syntezę RNA *in vitro* (CORDA i współaut. 1993). Wnioski z tych doświadczeń znalazły z kolei potwierdzenie w badaniach na poziomie komórki (MELLO i współaut. 1995). Z drugiej strony należy podkreślić, że platynowane miejsca w DNA są rozpoznawane specyficznie ale zarazem w sposób podobny przez tak odległe od siebie enzymy, jak polimeraza bakteryjna i polimeraza eukariotyczna. Co więcej, blokowanie elongacji łańcuchów RNA w układach bezkomórkowych obserwuje się w przypadku innych związków reagujących kowalencyjnie z DNA, zarówno leków przeciwnowotworowych (furokumaryny, antracykliny, iperyty azotowe), jak i kancerogenów (2-amino-fluoren, benzo(a)piren) (GNIAZDOWSKI 1994, GNIAZDOWSKI i CERA 1996). Ostatnio ukazały się publikacje, w świetle których zależność między stereochemią kompleksów platyny a aktywnością biologiczną ulega komplikacji. Związki platyny(II), w których ulegające podstawieniu jony chlorkowe znajdują się w położeniu trans, o rozbudowanych podstawnikach iminoetero-

wych, wykazują wyższy efekt przeciwnowotworowy niż ich izomery cis- (por. BRABEC i współaut. 1996 i publikacje cytowane tamże). Tak więc odpowiedź na pytanie, dlaczego spośród wieluset tysięcy związków o potencjalnym zna-

czeniu przeciwnowotworowym, cisplatyna, prosta struktura, której działanie wykryto przez przypadek, przeszła do kategorii parudziesięciu szeroko stosowanych leków pozostaje niepełna.

STEREOMERY AND BIOLOGICAL EFFECT — THE CASE OF CISPLATIN

Summary

Cis-dichlorodiammineplatinum(II), cisplatin, is a widely used anticancer drug while its trans isomer is ineffective. Recent experiments indicate that the different properties of the isomers may be observed at the subcellular level. Cisplatin bound to DNA is a strong barrier for DNA-dependent

RNA polymerases and, to a lower extent, for DNA-dependent DNA polymerases, while frequent bypasses of its inactive isomer, transplatin adducts have been observed. These findings may provide a molecular basis for the different pharmacological properties of these stereoisomers.

PIŚMIENNICTWO

- BRABEC V., VRANA O., NOVAKOVA O., KLEINWACHTER V., INTINI F. P., COLUCCIA M., NATILE G., 1996. *DNA adducts of antitumor trans-[PtCl₂(E-imoether)₂]*. *Nucleic Acids Res.* 24, 336–341.
- BRABEC V., LENG M., 1993. *DNA interstrand cross-links of trans-diamminedichloroplatinum(II) are preferentially formed between guanine and complementary cytosine residues*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 5345–5349.
- BELGUISE-VALLADIER P., MAKI H., SEKIGUCHI M., FUCHS R. P. P., 1994. *Effect of single DNA lesions on in vitro replication with DNA polymerase III holoenzyme. Comparison with other polymerases*. *J. Mol. Biol.* 236, 151–164.
- COMESS K. M., BURSTYN J. N., ESSIGMANN J. M., LIPPARD S. J., 1992. *Replication inhibition and translesion synthesis on template containing site-specifically placed cis-diamminedichloroplatinum(II) DNA adducts*. *Biochemistry* 31, 3975–3990.
- CORDA Y., JOB C., ANIN M. F., LENG M., JOB D., 1991. *Transcription by eucaryotic and procaryotic RNA polymerases of DNA modified at d(GG) or a d(AG) site by the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II)*. *Biochemistry* 30, 222–230.
- CORDA Y., ANIN M. F., LENG M., JOB D., 1992. *RNA polymerases react differently at d(ApG) and d(GpG) adducts in DNA modified by cis-diamminedichloroplatinum(II)*. *Biochemistry* 31, 1904–1908.
- CORDA Y., JOB C., ANIN M. F., LENG M., JOB D., 1993. *Spectrum of DNA-platinum adduct recognition by procaryotic and eukaryotic DNA-dependent RNA polymerases*. *Biochemistry* 32, 8582–8588.
- CULLINANE C., WICKHAM G., MCFAYDEN W. D., DENNY W. A., PALMER B. D., PHILLIPS D. R., 1993. *The use of bidirectional footprinting to detect platinum-DNA crosslinking by acridine — tethered platinum diamine complexes and cisplatin*. *Nucleic Acids Res.* 21, 393–400.
- FICHTINGER-SCHPEMAN A. M. J., 1993. *Genotoxicity as origin of antitumor activity of platinum compounds*. *Arch. Toxicol.* 67, 47–50.
- FICHTINGER-SCHPEMAN A. M. J., VAN DIJK-KNIJNENBURG H. C. M., VAN DER VELDE-VISSER S. D., BERENDS F., BAAN R. A., 1995. *Cisplatin and carboplatin-DNA adducts: is Pt-AG the cytotoxic lesion*. *Carcinogenesis* 16, 2447–2453.
- GNAZDOWSKI M., 1994. *Transkrypcja chemicznie zmodyfikowanego DNA*. *Post. Biochem.* 40, 22–30.
- GNAZDOWSKI M., CERA C., 1996. *The effects of DNA covalent adducts on in vitro transcription*. *Chem. Rev.* 96, 619–634.
- DECOVILLE M., SCHWARTZ A., LOCKER D., LENG M., 1993. *Detection of minor adducts in cisplatin-modified DNA by transcription footprinting*. *FEBS Lett.* 323, 55–58.
- HOFFMANN J. S., PILLAIRES M. J., MAGA G., PODUST V., HUBSCHER U., VILLANI G., 1995. *DNA polymerase bypasses in vitro a single d(GpG)-cisplatin adduct placed on codon 13 of the HRAS gene*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 5356–5360.
- KUDUK-JAWORSKA J., 1984. *Kompleksy platyny jako potencjalne leki przeciwnowotworowe*. *Post. Hig. Med. Dośw.* 38, 281–322.
- LEMAIRE M. A., SCHWARTZ A., RAHMOUNI A. R., LENG M., 1991. *Intrastrand cross-links are preferentially formed at the d(GC) sites in the reaction between cis-diamminodichloroplatinum(II) and DNA*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 1982–1985.
- LIPPARD S. J., 1982. *New chemistry of an old molecule: cis-[Pt(NH₃)₂Cl₂]*. *Science* 218, 1075–1082.
- MARROT L., LENG M., 1989. *Chemical probes of the conformation of DNA modified by cis-diamminedichloroplatinum(II)*. *Biochemistry* 28, 1454–1461.
- MELLO J. A., LIPPARD S. J., ESSIGMANN J. M., 1995. *DNA adducts of cis-diamminedichloroplatinum(II) and its trans isomer inhibit RNA polymerase II differentially in vivo*. *Biochemistry* 34, 14783–14791.
- MYMRYK J. S., ZANIEWSKI E., ARCHER T. R., 1995. *Cisplatin inhibits chromatin remodeling, transcription factor binding and transcription from the mouse mammary tumor virus promoter in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 2076–2080.
- MILLER D., MINAHAN D. M. A., FRIEDMAN M. E., KOHL H. H., MCAULIFFE C. A., 1983. *Effect of cis- and trans-platinum complexes on RNA transcription*. *Chem. Biol. Interact.* 44, 311–316.
- OLINSKI R., ZASTAWNY T. H., 1991. *Reakcje leku przeciwnowotworowego cis-diamminodichloroplatyny(II) z DNA*. *Post. Biochem.* 37, 41–48.
- PASCOE J. M., ROBERTS J., 1974. *Interactions between mammalian cell DNA and inorganic platinum compounds. I. DNA interstrand cross-linking and cytotoxic properties of platinum (II) compounds*. *Biochem. Pharmacol.* 23, 1345–1357.
- PINTO A. L., LIPPARD S. J., 1985. *Binding of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) (cisplatin) to DNA*. *Biochim. Biophys. Acta* 780, 167–180.
- ROSENBERG B., 1978. *Platinum complex-DNA interactions and anticancer activity*. *Biochimie* 60, 859–867.
- ROSENBERG B., VAN CAMP L., KRIGAS T., 1965. *Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode*. *Nature* 205, 698–699.
- SCHWARTZ A., MARROT L., LENG M., 1989. *Conformation of DNA modified at a d(GG) or a d(AG) site by the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II)*. *Biochemistry* 28, 7975–7979.

- SORENSEN C. M., EASTMAN A., 1988. *Mechanism of cis-diamminedichloroplatinum(II)-induced cytotoxicity: Role of G₂ arrest DNA double breaks.* Cancer Res. 48, 4484-4488.
- TAKAHARA P. M., ROSENZWEIG A. C., FREDERICK C. A., LIPPARD S. J., 1995. *Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin.* Nature 377, 649-651.
- VILLANI G., HÜBSCHER U., BUTOUR J. L., 1988. *Sites of termination of in vitro DNA synthesis on cis-diamminedichloroplatinum(II) treated single stranded DNA a comparison between E.coli DNA polymerase I and eucaryotic DNA polymerase.* Nucleic Acids Res. 16, 4407-4418.
- ZASTAWNY T. H., OLIŃSKI R., 1993. *Molekularne i komórkowe aspekty oddziaływania cis-diamminodichloroplatyny(II) z DNA.* Post. Hig. Med. Dośw. 47, 103-123.