

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

LUIGI MUSAJO, GIOVANNI RODIGHIERO, FRANCESCO  
DALL'ACQUA, FRANCO BORDIN, SEBASTIANO MARCIANI,  
RITA BEVILACQUA

**Prodotti di fotocicloaddizione a basi pirimidiniche  
isolati da DNA idrolizzato dopo irradiazione a 3.655  
Å in presenza di psoralene**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 42 (1967), n.4, p. 457–468.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1967\\_8\\_42\\_4\\_457\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_42_4_457_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

*SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



# RENDICONTI

DELLE SEDUTE

DELLA ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali

*Seduta dell'8 aprile 1967*

*Presiede il Presidente* BENIAMINO SEGRE

## NOTE DI SOCI

**Chimica.** — *Prodotti di fotocicloaddizione a basi pirimidiniche isolati da DNA idrolizzato dopo irradiazione a 3.655 Å in presenza di psoralene*<sup>(\*)</sup>. Nota di LUIGI MUSAJO, GIOVANNI RODIGHIERO, FRANCESCO DALL'ACQUA, FRANCO BORDIN, SEBASTIANO MARCIANI e RITA BEVILACQUA presentata<sup>(\*\*)</sup> dal Corrisp. L. MUSAJO.

SUMMARY. — In continuing the previous research on the photoreactions between DNA and skin-photosensitizing furocoumarins, the Authors have irradiated at 3,655 Å an aqueous solution of DNA added with psoralen. The DNA, precipitated and washed with ethyl alcohol, has been hydrolyzed by heating with 70 % perchloric acid. Among the products of hydrolysis the following substances have been isolated through preparative paper chromatography and identified.

1) A photoadduct psoralen-thymine, with violet fluorescence when observed at 3,655 Å, already obtained by the Authors through irradiation of an aqueous frozen solution of thymine and psoralen.

2) A photoadduct psoralen-cytosine, also with violet fluorescence and already obtained through irradiation of cytosine and psoralen.

3) A photoadduct psoralen-uracil, not present in the macromolecule but which takes place by a deamination of the photoadduct psoralen-cytosine.

All these compounds derive from a C<sub>4</sub>-cyclo-addition, in which the positions 4', 5' of psoralen and the positions 5, 6 of pyrimidine bases are involved.

(\*) Ricerche condotte nell'Istituto di Chimica farmaceutica dell'Università di Padova. Centro Nazionale di Chimica del Farmaco e dei Prodotti Biologicamente attivi del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Sezione di Padova.

(\*\*) Nella seduta dell'8 aprile 1967.

Hydrolysis of DNA, irradiated in the presence of psoralen, has been performed also in more mild conditions, that is by heating with 0.4 N hydrochloric acid. In this condition, in addition to the preceding substances, a fourth compound was identified, that is a photoadduct psoralen-thymine, without fluorescence at 3,655 Å, deriving also from a C<sub>4</sub>-cyclo-addition of the substances, but in which the positions 3, 4 of psoralen and the positions 5, 6 of thymine are involved. Also this compound has been previously obtained by irradiation of psoralen and thymine.

The results obtained clearly show that the stable combination of psoralen to DNA which occurs through the irradiation at 3,655 Å, takes place at the pyrimidine bases level with the formation of C<sub>4</sub>-cyclo-additions, in which the 5, 6-double bond of thymine and cytosine and the double bonds 4', 5' or 3, 4 of the furocoumarin are involved.

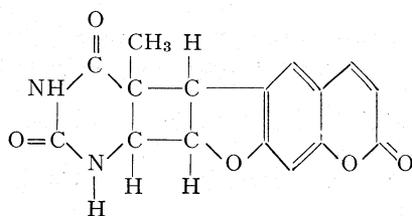
The fluorescent photoadduct psoralen-thymine 1) forms in a greater extent.

Da tempo ci occupiamo delle fotoreazioni che avvengono irradiando a 3.655 Å una soluzione di acido desossiribonucleico (DNA) nativo in presenza di furocumarine fotosensibilizzatrici della cute [1, 2, 3, 4]. Queste fotoreazioni infatti appaiono poter rendere ragione degli effetti biologici che le furocumarine stesse esercitano per irradiazione a 3.655 Å su diversi substrati, come la cute dell'uomo e delle cavie [1, 5, 6], le culture di batteri [7, 8, 9] o di cellule animali [10], i virus a DNA [11], gli spermatozoi dei ricci di mare [12], le cellule del tumore ascitico di Ehrlich [13].

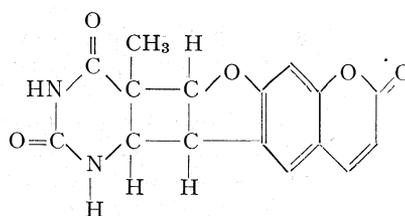
In conseguenza dell'irradiazione, le furocumarine risultano chimicamente legate alla macromolecola [3], senza che si abbiano rotture o profonde modificazioni della macromolecola stessa [14].

In uno screening condotto irradiando i semplici componenti del DNA, e cioè le basi, i nucleosidi ed i nucleotidi con furocumarine fotosensibilizzatrici è stato stabilito che solo i derivati pirimidinici fotoreagiscono e non i purinici [2, 15]. I nuovi composti che si formano in queste fotoreazioni sono di due tipi:

a) fotoaddotti derivanti da una C<sub>4</sub>-ciclo-addizione, che interessa il doppio legame 4', 5' della furocumarina ed il doppio legame 5, 6 del derivato pirimidinico; queste sostanze sono fluorescenti in luce u.v. di 3.655 Å [16] (formule I o II del fotoaddotto psoralene-timina).



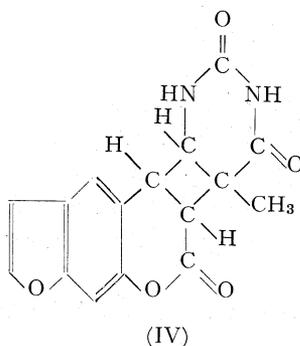
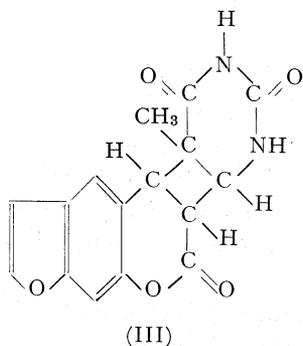
(I)



(II)

b) Fotoaddotti derivanti pure da una C<sub>4</sub>-ciclo-addizione, che però interessa il doppio legame 3, 4 della furocumarina ed il doppio legame 5, 6 della pirimidina; queste sostanze non sono fluorescenti in luce u.v. di 3.655 Å, ma lo diventano in seguito ad irradiazione a 2.537 Å, perché si decompongono

ridando la base pirimidinica e la furocumarina fluorescente [17] (formule III o IV del fotoaddotto psoralene-timina).



Ora abbiamo voluto accertare se nella fotoreazione con DNA i punti di attacco delle furocumarine sono effettivamente costituiti dalle basi pirimidiniche, come sembrano indicare i risultati dello screening sopra accennato. Perciò dopo aver irradiato a 3.655 Å una soluzione acquosa di DNA addizionata di psoralene, abbiamo precipitato dalla soluzione il DNA, lo abbiamo idrolizzato e quindi cercato se tra i prodotti di idrolisi erano presenti i fotoaddotti tra psoralene e basi pirimidiniche dei tipi sopra citati.

#### MATERIALE E METODI.

*DNA.* — È stato usato un campione di DNA estratto da sperma di salmone, della Ditta Calbiochem, Los Angeles, California (U.S.A.). L'ipocromicità del campione era pari al 38 % ed il  $T_m$ , determinato secondo Marmur e Doty [18], era 86°,4.

*Psoralene.* — È stato estratto in questo Istituto dalle foglie del fico (*figus carica*) p.f. 164°,5.

*Irradiazione.* — Una soluzione 0,15 % di DNA veniva preparata mettendo 600 mg di DNA a contatto con 400 ml di soluzione acquosa 0,002 M di cloruro sodico, lasciando in riposo una notte a 0° ed agitando quindi la soluzione per 15 minuti a temperatura ambiente. Ad essa veniva aggiunta una soluzione concentrata di psoralene in acetone (10 mg/ml) fino ad arrivare ad una concentrazione di 70 µg/ml di psoralene nella soluzione di DNA. La soluzione veniva posta entro due cristallizzatori di vetro del diametro di cm 20 ed irradiata per tre ore con due lampade (una per cristallizzatore) Philips HPW 125 poste alla distanza di 20 cm ( $0,99 \cdot 10^{15}$  quanti/cm<sup>2</sup>/sec.).

Dopo l'irradiazione, alla soluzione veniva addizionato cloruro sodico fino a concentrazione 1 M. Il DNA veniva quindi precipitato aggiungendo 2 volumi di alcool etilico assoluto, lavato con alcool 80 %, lasciato a contatto per un'ora con 10 ml di alcool etilico assoluto e quindi seccato all'aria e poi in essiccatore sotto vuoto su gel di silice.

## RISULTATI.

*Idrolisi con acido perclorico.* - 600 mg di DNA, precipitato dopo l'irradiazione in presenza di psoralene, lavato e seccato come è stato sopra detto, sono stati addizionati entro un palloncino di 12 ml di acido perclorico 70 % e scaldati su b.m. bollente per 1 ora. Il liquido denso, nerastro ottenuto è stato diluito con 25 ml di acqua e centrifugato (5 minuti a 3.000 giri al minuto); il supernatante decantato (soluzione acquosa A) ed il residuo nero estratto a freddo con alcool etilico assoluto per 2 volte (15 ml + 15 ml), centrifugando ogni volta e riunendo alla fine i due supernatanti (soluzione alcoolica B).

La soluzione acquosa A è stata neutralizzata con bicarbonato di potassio, addizionata di 2 volumi di alcool etilico e filtrata, eliminando il precipitato di perclorato di potassio formatosi, il liquido filtrato concentrato a piccolo volume a pressione ridotta e sottoposto a separazione cromatografica su carta.

La soluzione alcoolica B è stata pure addizionata di bicarbonato di potassio in leggero eccesso, filtrata trascurando il precipitato, concentrata a piccolo volume a pressione ridotta e sottoposta pure a separazione cromatografica. In entrambi i casi le soluzioni deposte sotto forma di banda su fogli di carta spessa Wathman 3 MM, sviluppando col solvente alcool butilico-ac. acetico-acqua (4 : 1 : 5, v/v).

I risultati ottenuti sono riportati nella Tabella I.

Le bande cromatografiche con uguale  $R_f$  ottenute con le due soluzioni A e B sono state ritagliate ed eluite insieme.

TABELLA I.

*Bande con fluorescenza violetta (osservazione a 3.655 Å) apparse sui cromatogrammi su carta delle soluzioni ottenute dall'idrolisi del DNA irradiato in presenza di psoralene.*

Sviluppo con alcool butilico-ac. acetico-acqua (4 : 1 : 5, v/v)

SOLUZIONE	$R_f$ 0,48	$R_f$ 0,62	$R_f$ 0,71
Soluz. acquosa A . . . . .	debolissima	debole	intensa
Soluz. alcoolica B . . . . .	evidente	debole	intensa

*Sostanza con  $R_f$  0,71.* - L'eluato ottenuto con alcool metilico dalle bande con  $R_f$  0,71 ritagliate è stato concentrato a piccolo volume a pressione ridotta e ricromatografato ancora su carta Wathman 3 MM usando per lo sviluppo alcool butilico-ac. acetico-acqua (4 : 1 : 5, v/v). L'osservazione dei cromatogrammi a 3.655 Å mostrava la presenza di una sola banda con fluorescenza violetta e  $R_f$  0,71. È presente anche della timina (banda scura con  $R_f$  0,61, osservazione a 2.537 Å).

Le bande con fluorescenza violetta dei vari fogli cromatografici sono state ritagliate, eluite con alcool metilico e ricromatografate ancora su carta Wathmann 3 MM sviluppando con acqua. Nei nuovi cromatogrammi osservati a  $3.655 \text{ \AA}$  si vedeva una unica banda con fluorescenza violetta molto intensa ed  $R_F$  0,62. La timina è ora assente.

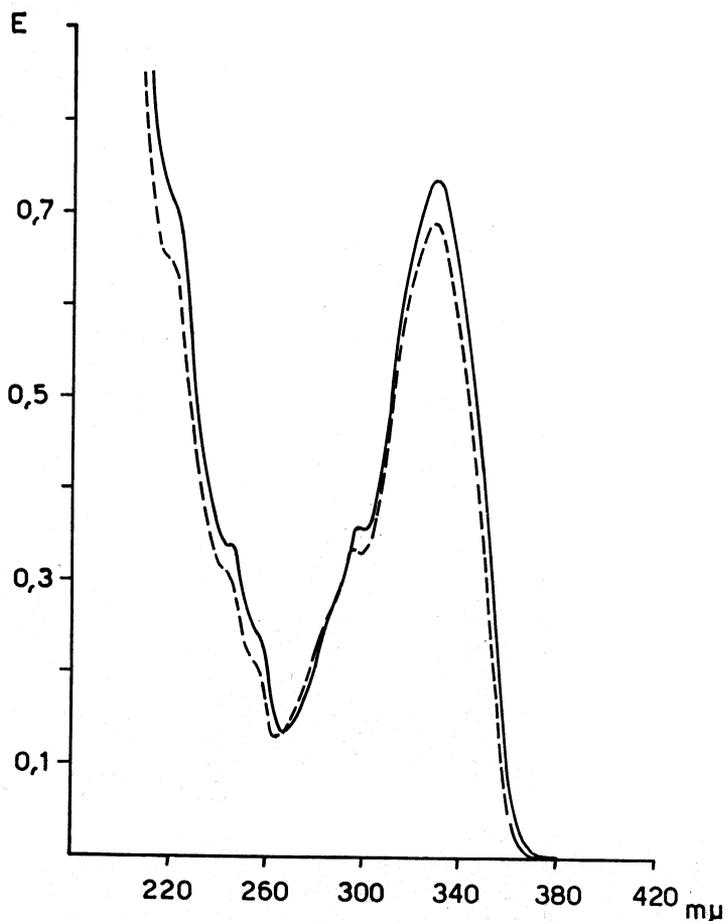


Fig. 1. — Spettri u.v. del fotoaddotto fluorescente psoralene-timina (formula I o II) ottenuto per idrolisi del DNA irradiato in presenza di psoralene ---- e per irradiazione a  $3.655 \text{ \AA}$  di una soluzione acquosa ghiacciata di psoralene e timina ———.

Le bande dei nuovi fogli cromatografici ritagliate sono state eluite con alcool metilico; in questa soluzione, opportunamente diluita è stato determinato lo spettro di assorbimento ultravioletto e quello di fluorescenza: come risulta dalla figg. 1 e 2 essi sono risultati identici a quelli del fotoaddotto psoralene-timina (composto formula I o II) isolato dall'irradiazione delle due sostanze [16]. Anche il comportamento cromatografico su carta della sostanza ora isolata e del fotoaddotto psoralene-timina, eseguito per confronto con due diversi solventi di sviluppo (alcool butilico-ac. acetico-acqua 4 : 1 : 5,  $v/v$ , oppure acqua), è risultato identico.

*Fotodemolizione della sostanza isolata.* - Poiché è noto che i fotoaddotti psoralene-pirimidine, irradiati in soluzione acetica a  $2.537 \text{ \AA}$  si decompongono ridando psoralene e pirimidine [16], la soluzione metilalcolica ottenuta dall'eluizione delle bande con  $R_F 0,71$  è stata evaporata a secco a pressione ridotta ed il residuo ripreso con 3 ml di ac. acetico. Questa soluzione, posta in un cristallizzatore di vetro di 4,5 cm di diametro, è stata irradiata per 100 minuti con una lampada Philips TUV-15 W posta a 20 cm di distanza (emissione principale a  $2.537 \text{ \AA}$ ). La soluzione è stata quindi evaporata a

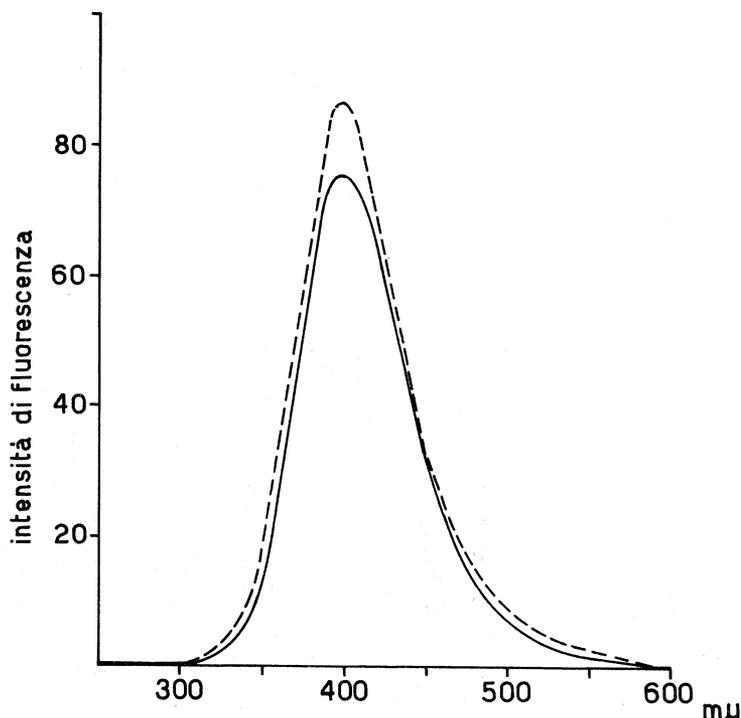


Fig. 2. - Spettri di fluorescenza ( $\lambda$  eccitante =  $330 \text{ m}\mu$ ) del fotoaddotto psoralene-timina (formula I o II) ottenuto per idrolisi del DNA irradiato in presenza di psoralene ---- e per irradiazione a  $3.655 \text{ \AA}$  di una soluzione acquosa ghiacciata di psoralene e timina —.

pressione ridotta ed il residuo è stato ripreso con alcool metilico e deposto su carta Wathmann 3 MM sotto forma di banda, sviluppando il cromatogramma con acqua.

Esaminando il cromatogramma a  $3.655 \text{ \AA}$ , appariva molto evidente una banda con fluorescenza grigio-azzurra ed  $R_F 0,35$ , facilmente identificabile per confronto cromatografico con psoralene. Ad un successivo esame a  $2.537 \text{ \AA}$  appariva pure molto evidente una banda scura con  $R_F 0,67$  identificabile pure per confronto cromatografico con la timina.

L'identificazione è confermata dal fatto che le due bande, ritagliate ed eluite separatamente con alcool metilico, hanno dato spettri u.v. identici a quelli del psoralene e della timina rispettivamente (vedi figg. 3 e 4).

Sostanza con  $R_F$  0,62. — La purificazione e l'identificazione di questa sostanza è stata condotta in maniera analoga a quanto detto per la sostanza ad  $R_F$  0,71. Le bande dei cromatogrammi sono state ritagliate, eluite e la sostanza ricromatografata usando per lo sviluppo una miscela costituita da:

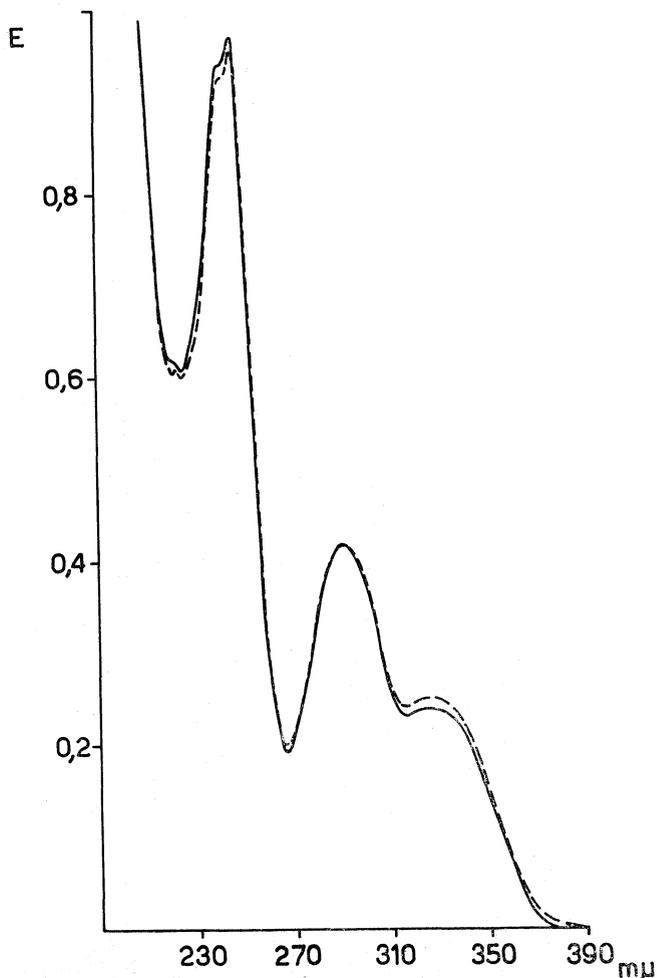


Fig. 3. — Spettri u.v. del psoralene ottenuto per fotodemolizione ( $2.537 \text{ \AA}$ ) del fotoaddotto fluorescente psoralene-timina (formula I e II) ----- e di un campione di psoralene autentico (da foglie di fico) ———.

soluzione acquosa saturata di solfato ammonico, soluzione 1 M di acetato sodico, isopropanolo (40 : 9 : 1,  $v/v$ ). Questo solvente cromatografico permette una buona separazione della sostanza dalla timina e dalle altre basi presenti nell'idrolizzato del DNA. La sostanza, dopo un'ulteriore purificazione sempre per cromatografia su carta, usando acqua per lo sviluppo, eluita con alcool metilico, ha dato uno spettro u.v. identico a quello del fotoaddotto psoralene-uracile, ottenuto per irradiazione a  $3.655 \text{ \AA}$  di psoralene ed ura-

cile [16]. Il comportamento cromatografico delle due sostanze è risultato identico. Anche questa sostanza, irradiata in soluzione acetica a  $2.537 \text{ \AA}$ , come abbiamo detto più sopra, si è decomposta dando psoralene ed uracile, identificati in base al loro comportamento cromatografico su carta ed ai loro spettri ultravioletti, dopo separazione per cromatografia su carta.

Come diremo più avanti, questa sostanza proviene dalla deaminazione del fotoaddotto psoralene-citosina.

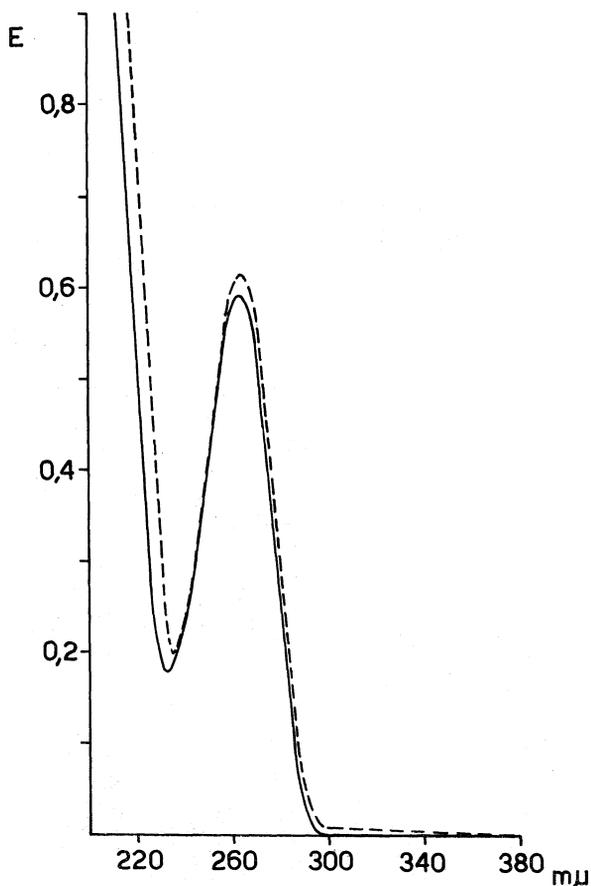


Fig. 4. - Spettri u.v. della timina ottenuta per fotodemolizione ( $2.537 \text{ \AA}$ ) del fotoaddotto fluorescente psoralene-timina (formula I o II) ---- e di un campione di timina autentica ———.

*Sostanza con  $R_F$  0,48.* - Anche in tal caso si è cercato di isolare della sostanza ritagliando le bande cromatografiche ed eluendole con alcool etilico. Questa sostanza però si è dimostrata di difficile isolamento, perché facilmente alterabile: durante le successive corse cromatografiche eseguite per purificarla, si è notata una sua graduale trasformazione nella sostanza con  $R_F$  0,62 (cioè nel fotoaddotto psoralene-uracile del tipo di cui alle formule I e II), trasformazione che poteva venire limitata, ma non evitata del tutto, operando

sempre a freddo, senza nessun riscaldamento, anche nella preparazione dei cromatogrammi.

Il comportamento cromatografico di questa sostanza e la sua facile alterabilità corrispondono a quelli del fotoaddotto che si forma irradiando a 3.655 Å psoralene e citosina; è stato dimostrato infatti che questo fotoaddotto psoralene-citosina subisce molto facilmente una deaminazione, trasformandosi nel composto psoralene-uracile [16].

Dalla Tabella I risulta che questa sostanza nell'idrolisi sopra descritta, operando su 600 mg di DNA e senza osservare particolari cautele per quanto riguarda il riscaldamento della soluzione acquosa A e nelle operazioni successive alla sua neutralizzazione, in questa stessa soluzione acquosa A è presente solo in piccola quantità. Si è trovato però che la sua quantità aumenta, tanto da divenire nettamente prevalente sul fotoaddotto psoralene-uracile se tutte le operazioni successive alla neutralizzazione della soluzione acquosa A, vengono condotte in modo da evitare ogni aumento di temperatura sopra i 15°. In base a questi fatti riteniamo che la sostanza con fluorescenza violetta ed  $R_F$  0,48 sia chiaramente identificabile con il fotoaddotto psoralene-citosina.

*Idrolisi con acido cloridrico 0,4 N.* - Poiché è stato constatato che i fotoaddotti tra psoralene e basi pirimidiniche del tipo *b*) (non fluorescenti) sono completamente decomposti per riscaldamento con acido perclorico 70 %, è stata eseguita anche un'idrolisi in condizioni molto più blande, cioè mediante riscaldamento con acido cloridrico 0,4 N. È noto che in queste condizioni vengono facilmente staccate dalla macromolecola le basi puriniche e quelle basi pirimidiniche che sono idrogenate nel doppio legame 5-6 [19].

60 mg di DNA, irradiato a 3.655 Å in presenza di psoralene e precipitato dalla soluzione nelle condizioni prima descritte, sono stati riscaldati con 6 ml di acido cloridrico 0,4 N a 100° entro fiala chiusa per un'ora. La soluzione limpida ottenuta è stata quindi evaporata sotto vuoto, ripresa con alcool metilico e questa soluzione, decantata dal residuo, è stata esaminata con cromatografia su strato sottile di polvere di cellulosa (MN-300 G Macherey Nagel) sviluppando con acqua. L'osservazione del cromatogramma a 3.655 Å ha mostrato una macchia con  $R_F$  0,65 e fluorescenza violetta, corrispondente ai due fotoaddotti di tipo *a*) psoralene-timina e psoralene-uracile, che in queste condizioni hanno lo stesso  $R_F$  (1). L'osservazione invece a 2.537 Å ha mostrato macchie scure dovute alle basi puriniche ( $R_F$  0,38) e pirimidiniche (0,72, debole). Dopo esposizione di alcuni minuti a 2.537 Å, il cromatogramma, riosservato a 3.655 Å ha mostrato una nuova macchia con fluorescenza grigio-azzurra ed  $R_F$  0,85: si tratta di psoralene il quale prima non era rivelabile, ma lo diventa dopo irradiazione a 2.537 Å. Ciò va interpretato

(1) Questa unica macchia è stata risolta per cromatografia su carta (solvente alcool butilico, acido acetico, acqua: 4 : 1 : 5, *v/v*); si sono ottenute due macchie corrispondenti ai fotoaddotti di cui sopra.

nel senso che il psoralene si trova combinato in uno dei fotoaddotti non fluorescenti del tipo *b*) recentemente isolati, in piccolissima quantità, per irradiazione di psoralene e timina [17].

Tali fotoaddotti vengono demoliti a  $2.537 \text{ \AA}$  e nella posizione che essi occupano nel cromatogramma compare il psoralene.

Applicando questa tecnica, mediante ripetute separazioni cromatografiche è stato possibile ottenere una soluzione sufficientemente pura di questo fotoaddotto, tale da permettere un confronto cromatografico con l'analogo fotoaddotto isolato dall'irradiazione di psoralene e timina. Inoltre la soluzione, irradiata in soluzione di ac. acetico per 30 minuti a  $2.537 \text{ \AA}$  (lampada Philips TUV-15 W a 10 cm), e quindi cromatografata su carta Wathmann N. 1, sviluppando con alcool butilico-ac. acetico-acqua (4 : 1 : 5, *v/v*) ha dato macchie identificabili con psoralene e timina oltre a tracce di fotoaddotto rimasto inalterato.

#### CONCLUSIONI.

Come abbiamo riferito, l'idrolisi del DNA è stata compiuta con due procedimenti. Uno di questi, cioè il riscaldamento a  $100^\circ$  con acido perclorico 70 %, è molto energico e porta alla idrolisi completa della macromolecola, fino alle basi puriniche e pirimidiniche libere; esso è stato applicato ad esempio da Beukers, Ijlst e Berends per isolare il dimerico della timina dal DNA irradiato a  $2.537 \text{ \AA}$  [20]. In questa maniera abbiamo ottenuto fotoaddotti del tipo *a*).

L'altro procedimento, cioè il riscaldamento a  $100^\circ$  con acido cloridrico 0,4 N è molto più blando; ad esso si è dovuto ricorrere perché i fotoaddotti di tipo *b*) vengono completamente decomposti dall'acido perclorico, quindi non era possibile metterli in evidenza compiendo l'idrolisi in quelle condizioni. L'acido cloridrico 0,4 N non provoca la completa idrolisi del DNA, ma solo il distacco delle basi puriniche; le basi pirimidiniche invece normalmente non vengono liberate, a meno che non siano state idrogenate nel doppio legame 5-6 [19]. Nelle basi pirimidiniche impegnate in un fotoaddotto con le furocumarine tale doppio legame risulta saturo per la formazione dell'anello ciclobutanico, ed effettivamente abbiamo constatato che esse vengono staccate dalla macromolecola.

Tra i prodotti dell'idrolisi con acido cloridrico 0,4 N abbiamo trovato perciò sia i fotoaddotti del tipo *a*) ed uno del tipo *b*). Nelle condizioni da noi usate, il distacco di questi fotoaddotti non è stato completo; una parte di essi è rimasta ancora legata alla macromolecola. Abbiamo constatato però che un aumento sia del tempo di riscaldamento sia della concentrazione dell'acido cloridrico, portava ad una maggiore decomposizione del fotoaddotto non fluorescente psoralene-timina.

Le ricerche ora descritte hanno dunque permesso di identificare fra i prodotti di idrolisi del DNA irradiato in presenza di psoralene i composti che erano già stati ottenuti per irradiazione delle singole basi pirimidiniche con

lo stesso psoralene. La Tabella II dà un quadro riassuntivo dei fotoaddotti ottenuti e delle posizioni di attacco della base pirimidinica alla furocumarina.

TABELLA II.

*Fotoaddotti ottenuti per idrolisi del DNA irradiato a 3.655 Å in presenza di psoralene.*

No	RF su carta*		Fluorescenza a 3.655 Å	Costituzione	Posizioni impegnate nella formazione dell'anello ciclobutanico	
	alcool butilico-ac. acetico-acqua (4 : 1 : 5, v/v)	acqua			Base pirimidinica	Psoralene
1	0,71	0,60	viola	psoralene + timina	5-6	4'-5'
2	0,48	0,45	viola	psoralene + citosina	5-6	4'-5'
3	0,62	0,59	viola	psoralene + uracile	5-6	4'-5'
4	0,70	0,80	nessuna	psoralene + timina	5-6	3-4

L'isolamento del composto fluorescente psoralene-uracile deriva, come è già stato detto, dalla deaminazione della parte citosinica del corrispondente fotoaddotto psoralene-citosina. La sua quantità può essere molto ridotta operando con precauzione, e cioè evitando qualsiasi riscaldamento.

Abbiamo attualmente in corso altre esperienze con psoralene uniformemente tritato, che ci dovrebbero fornire dati quantitativi e quindi un quadro completo dei punti e dei modi di attacco della furocumarina al DNA. Fin d'ora però possiamo dire che i fotocomposti di tipo *a*) e fra questi quello con la timina, si formano in quantità prevalente rispetto a quello del tipo *b*).

Resta comunque accertato, in base ai risultati qui riportati, che anche nel DNA la fotoreazione, che avviene per irradiazione a 3.655 Å, porta a C<sub>4</sub>-ciclo-addizioni della furocumarina (mediante i doppi legami 4', 5' o 3-4) al doppio legame 5-6 della timina e della citosina, in maniera analoga a quanto si riscontra irradiando le furocumarine assieme alle semplici basi pirimidiniche [16, 17].

## BIBLIOGRAFIA.

- [1] L. MUSAJO e G. RODIGHIERO, « *Experientia* », 18, 153 (1962).
- [2] L. MUSAJO, G. RODIGHIERO e F. DALL'ACQUA, « *Experientia* », 21, 24 (1965).
- [3] L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, A. BRECCIA, F. DALL'ACQUA e G. MALESANI, « *Photochemistry and Photobiology* », 5, 739 (1966).
- [4] L. MUSAJO, *Proceedings of the III International Congress of Radiation Research, Cortina d'Ampezzo, June 26-July 2, 1966*, in corso di stampa.
- [5] M. A. PATHAK e T. B. FITZPATRICK, « *J. Investig. Dermatol.* », 32, 255, 509 (1959).

- 
- [6] M. A. PATHAK, J. H. FELLMANN e K. D. KAUFMAN, « J. Investig. Dermatol. », 35, 165 (1960).
- [7] W. L. FOWLKS, D. G. GRIFFITH e E. L. OGINSKY, « Nature », 181, 571 (1958).
- [8] E. L. OGINSKY, S. G. GREEN, D. G. GRIFFITH e W. L. FOWLKS, « J. Bacteriol. », 78 821 (1959).
- [9] M. M. MATHEWS, « J. Bacteriol. », 85, 322 (1963).
- [10] G. COLOMBO e A. G. LEVIS, « Progress in Biochem. Pharmacol. », 1, 392 (1965).
- [11] L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, G. COLOMBO, V. TORLONE e F. DALL'ACQUA, « Experientia », 21, 22 (1965).
- [12] G. COLOMBO, in corso di stampa.
- [13] L. MUSAJO, P. VISENTINI, F. BACCICHETTI e M. RAZZI, « Experientia », in corso di stampa.
- [14] Risultati non ancora pubblicati.
- [15] L. MUSAJO e G. RODIGHIERO, « Rend. Accad. Naz. Lincei », 38, 591 (1965).
- [16] L. MUSAJO, F. BORDIN, G. CAPORALE, S. MARCIANI e G. RIGATTI, *Photochemistry and Photobiology*, in corso di stampa.
- [17] L. MUSAJO, F. BORDIN e R. BEVILACQUA, in corso di stampa.
- [18] J. MARMUR e P. DOTY, « J. Mol. Biol. », 5, 109 (1962).
- [19] M. FLORKIN e E. H. STOTZ, *Comprehensive Biochemistry*, vol. 8, Elsevier Publ. Comp., London 1963, p. 196.
- [20] R. BEUKERS, J. IJLSTRA e W. BERENDS, « Recueil », 79, 101 (1960).