

## Naujų aminorūgščių darinių su indolo, benzoksazolinono fragmentais sintezė ir jų poveikio rapsų (*Brassica napus* L.) augimui *in vitro* tyrimas

E. Kovaitė, I. Ramanauskaitė, I. Jonuškienė, K. Anusevičius, V. Mickevičius

Kauno technologijos universitetas,  
Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva  
El. paštas irenaramanauskaite@gmail.com

**crossref** <http://dx.doi.org/10.5755/j01.ct.64.2.6022>

Gauta 2013 m. gruodžio 20 d.; priimta spaudai 2013 m. gruodžio 31 d.

Atliekant 3-indolilacto bei 3-(3-benzoksazonil)propano rūgščių hidrazidų ir itakono rūgšties reakcijas, susintetintos 2-{{2-(1*H*-indol-3-ilacetil)hidrazinil}metil}butano dirūgštis (junginys **2**) ir 5-okso-1-{{3-(2-okso-1,3-benzoksazol-3(2*H*)-il)propan}amino}pirolidin-3-karboksirūgštis (junginys **5**), iširtas jų poveikis vasarinių rapsų (*Brassica napus* L.) augimui. Nustatyta, kad junginio **2** optimali koncentracija daiginant rapsus *in vitro* buvo 24,9 μM/l, o junginio **5** – 45,0 μM/l. 5-Okso-1-{{3-(2-okso-1,3-benzoksazol-3(2*H*)-il)propan}amino}pirolidin-3-karboksi rūgštis (**5**) pasižymėjo intensyvesniu šaknų augimą stimuliuojančiu veikimu nei 2-{{2-(1*H*-indol-3-ilacetil)hidrazino}metil}butano dirūgštis (**2**). Tokia pat tendencija stebima ir auginant rapsus Murashige ir Skoog terpėje. Gautieji duomenys leidžia teigti, kad naujieji junginiai pasižymi rapsų augimą stimuliuojančiu poveikiu ir yra ne mažiau aktyvūs nei žinomi augalų augimo stimulatoriai – 3-indolilacto rūgštis (IAR) ir 3-(3-benzoksazonil)propano rūgšties natrio druska (St -14).

**Raktažodžiai:** rapsai, aminorūgštys, stimuliuojantis veikimas, auksinai.

### Įvadas

Klimato pokyčiai Lietuvoje vyksta dėl dažnėjančių ekstremalių meteorologinių sąlygų, kurios turi didelę įtaką žemės ūkio augalų raidai ir produktyvumui [1, 2]. Vasariniai rapsai (*Brassica napus* L.) – vieni iš jautriausių augalų net ir nedideliems auginimo technologijos pažeidimams, todėl jų derlius ir juose kaupiami pirminiai bei antriniai metabolitai priklauso nuo daugelio veiksnių: augimo reguliatorių, temperatūros, vandens, maistinių medžiagų (azoto, fosforo, kalio, kalcio, boro, sieros) ir jų kiekio, dirvožemio rūgštingumo, vystymosi kaitos, augalų ligų [3, 4].

Lietuvoje, kaip ir visame pasaulyje, plačiai yra tiriama ne tik natūralių, bet ir sintetinių augimo reguliatorių įtaka daugeliui žemės ūkio augalų [5]. Vieni augimo reguliatoriai gali būti naudojami augalų vegetatyviam augimui ar žydėjimui skatinti, kiti – augalo augimui ir derlingumui išlaikyti nepalankiomis aplinkos sąlygomis [6]. Sintetiniams augimo reguliatoriams, atsižvelgiant į jų naudojimo sąlygas, koncentraciją, fiziologinę augalo būseną, galima modifikuoti rapsų augimo, vystymosi ir derliaus formavimosi fiziologines, biochemines ir morfologines ypatybes ir užtikrinti didesnį rapsų sėklų derlių [7].

3-Indolilacto rūgštis (IAR) yra viena iš svarbiausių gamtinių auksinų [9]. Sintetiniams auksinams priskiriama 3-(3-benzoksazonil)propano rūgštis, kurios natrio druska – stilitas-14 dešimtį metų tirta Lietuvoje auginant cukrinius runkelius [10, 11]. Atliekant naujai susintetintų junginių pirminius tyrimus, svarbu, kaip atlikti greitą ir efektyvą jų testavimą ir išvengti ilgalaikių lauko

bandymų. Pirminiam naujų junginių testavimui gali padėti tyrimai, atliekami *in vitro* [7].

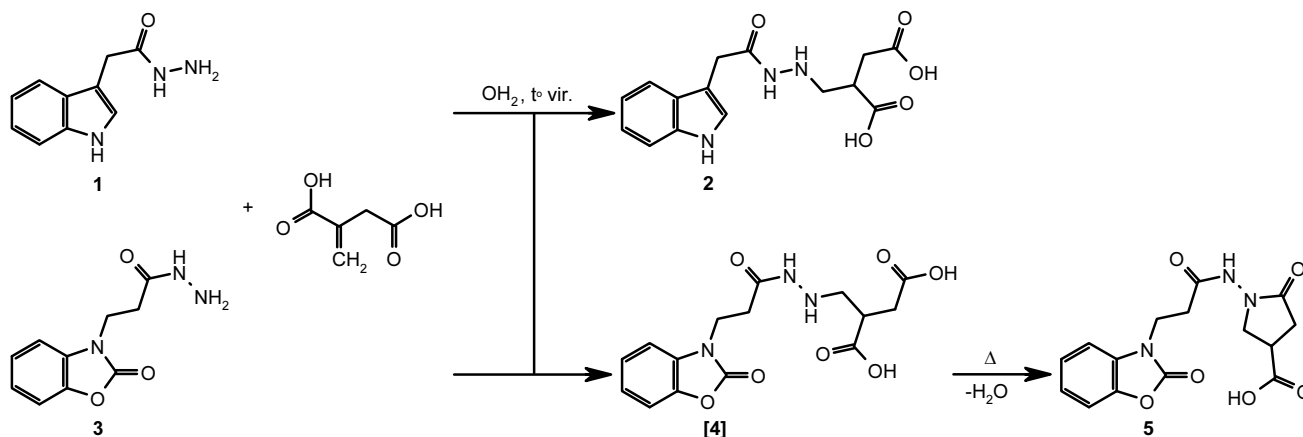
Svarbūs augalo parametrai yra daigų aukštis, šaknų ilgis, biomasė ir sausosios medžiagos. Šaknų vystymasis yra gyvybiškai svarbus augalui prisitaikyti aplinkoje. Kuo ilgesnės augalo šaknys, tuo jos geriau apsirūpina iš dirvos vandeniu, kuriame gausu maistinių medžiagų, būtinų augalo medžiagų apykaitai. Taip pat svarbi augalo biomasė ir kuo didesnis asimiliacinis lapų plotas tenka dirvos paviršiui ir laiko vienetai, tuo saulės energijos daugiau susikaupia biomasėje ir tai sąlygoja didesnį augalo derlių [8].

Šio darbo tikslas – susintetinti naujus junginius, molekulėje turinčius auksinų savybėmis pasižymintį fragmentą bei β,γ-aminorūgšties ar jos ciklizacijos produkto – 3-karboksi-5-oksopirolidino fragmentą, ir iširti gautų junginių poveikį vasarinių rapsų (*Brassica napus* L.) augimui *in vitro*. Naujai įvesti aminorūgšties ar jos ciklizacijos produkto – 3-karboksi-5-oksopirolidino fragmentai junginių hidrolizės metu galėtų atlikti osmolitų vaidmenį augalui augant nepalankiomis stresinėmis sąlygomis [12]. Gavus duomenis būtų galima palyginti naujų junginių efektyvumą su žinomais augalų augimo stimulatoriais ir pasiūlyti atlikti bandymus realiomis rapsų auginimo sąlygomis.

## Medžiagos ir tyrimų metodikos

### Sintezė

Naujų junginių sintezė buvo atlikta Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos



1 schema. Aminorūgščių darinių 2, 5 sintezė

Susintetintų junginių struktūrai nustatyti buvo užrašyti junginių 2 ir 5  $^1\text{H}$  ir  $^{13}\text{C}$  BMR spektrai. Iš jų matyti, kad junginiai 1 ir 3 su itakono rūgštimi reaguoja nevienodai – indolilacto rūgšties hidrazidas (1) sudaro tik prijungimo produktą – N-pakeistą aminorūgštį 2, o reaguojant hidrazidui 3 analogiško prijungimo produkto 4 išskirti nepavyko, nes jis netekdamas molekulinės vandens spontaniškai ciklizavosi į junginį 5.

### Eksperimentinė dalis

BMR spektrai rašyti *Varian Unity Inova* ( $^1\text{H}$  300 MHz,  $^{13}\text{C}$  75 MHz) spektrometru. Vidiniu standartu naudotas tetrametilsilanas (TMS). Cheminiai poslinkiai  $\delta$  skalėje išmatuoti milijoninėmis dalimis (m. d.). IR spektrai rašyti spektrometru *PERKIN ELMER Spectrum Bx FT-IR* (KBr tabl), UV spektrai – spektrometru *PERKIN ELMER UV/VIS Spectrum*. Lydymosi temperatūros nustatytos atvirame kapiliare MEL-TEMP (*Electrothermal, A Bibby Scientific Company, USA*) aparatu. Reakcijos eiga stebėta ir gautų produktų grynumas nustatytas plonasluoksnės chromatografijos būdu naudojant *Merc Silica gel 60 F<sub>254</sub>* plokšteles. Plokštelės ryškintos ultravioletine šviesa ( $\lambda = 254$  nm ir 366 nm). Elementinė analizė atlikta *Exeter Analytical CE-440 Elemental* aparatu.

**2-{{[2-(1H-indol-3-ilacetil)hidrazo]metil}butano dirūgštis (2).** Hidrazido 1 (1,89 g, 0,01 mol), itakono rūgšties (1,43 g, 0,011 mol) ir 30 ml vandens mišinys virinamas 5 val., lakiosios frakcijos nudistiliuojamas esant sumažintam slėgiui rotaciniu garintuvu, likutis kristalinamas iš tolueno. Susidarę junginio 5 kristalai filtruojami, plaunami heksanu, džiovinami.

Išeiga – 1,93 g (61 %), lyd. t. – 119–120 °C (iš tolueno).

fakulteto Organinės chemijos katedroje. Junginiai 2 ir 5 susintetinti iš atitinkamų rūgščių hidrazidų ir itakono rūgšties, reakcijos vykdomos vandenyje (1 schema).

**IR** (v,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3524, 3442, 3387, 3148, 2995 (OH ir NH), 1733, 1687, 1655 (CO).

**$^1\text{H}$  BMR**,  $\delta$ , m. d.: 2,83–3,10 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ), 3,75–3,80 (m, 2H,  $\text{NHCH}_2$ ), 3,91–4,03 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 4,49 (s, 2H  $\text{CH}_2\text{CONH}$ ), 5,47–5,55 (m, 1H,  $\text{NHCH}_2$ ), 7,00–7,55 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$  ir  $\text{NHCH}$ ), 8,14 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CONH}$ ), 9,52 (s, 1H,  $\text{NHCH}$ ), 11,25 (s, 1H, OH).

**$^{13}\text{C}$  BMR**,  $\delta$ , m. d.: 31,2, 36,4, 42,1, 63,3, 105,5, 111,8, 116,4, 118,1, 119,2, 121,7, 124,1, 124,2, 125,3, 127,7, 130,7, 133,7, 136,8, 141,7, 167,2, 170,2.

Apskaičiuota, %: C 56,42; H 5,37; N 13,16.  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$ . Nustatyta, %: C 56,34; H 5,12; N 13,34.

**5-Okso-1-{{[3-(2-okso-1,3-benzoksazol-3(2H)-il)propanoil]amino}pirolidin-3-karboksirūgštis (5).** Hidrazido 3 (2,21 g, 0,01 mol), itakono rūgšties (1,43 g, 0,011 mol) ir 30 ml vandens mišinys virinamas 5 val., atšaldomas, išsiskyres produktas filtruojamas, plaunamas vandeniu, džiovinamas. Išeiga – 3,01 g (90 %), lyd. t. – 213–214 °C (iš vandens).

**IR** (v,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3294–2995 (OH ir NH), 1779, 1758, 1731, 1654 (CO).

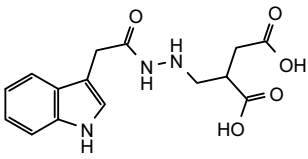
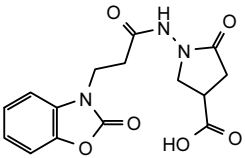
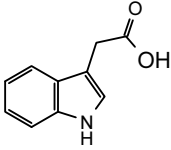
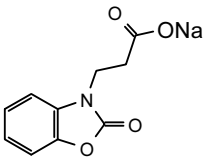
**$^1\text{H}$  BMR**,  $\delta$ , m. d.: 2,40–2,58 (m, 2H,  $\text{NCOCH}_2$ ), 2,63 (t,  $J = 6,9$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 3,19–3,32 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3,40–3,60 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CO}_2$ ), 4,05 (t,  $J = 6,7$  Hz, 2H  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 7,08–7,43 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 10,23 (s, 1H,  $\text{NH}$ ), 12,77 (s, 1H, OH).

**$^{13}\text{C}$  BMR**,  $\delta$ , m. d.: 31,2, 31,4, 34,1, 38,2, 49,4, 109,5, 109,6, 122,2, 123,9, 130,9, 142,0, 153,6, 168,5, 170,7, 174,0.

Apskaičiuota, %: C 54,05; H 4,54; N 12,61.  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6$ . Nustatyta, %: C 53,87; H 4,38; N 12,65.

Biologiniams tyrimams paruošti 2 junginio 1,7; 3,3; 5,0; 6,6; 8,3; 11,6; 16,6; 24,9; 33,2; 41,5; 49,8; 66,4  $\mu\text{M/l}$  ir 5 junginio 1,5; 3,0; 4,5; 6,0; 7,5; 10,5; 15,0; 22,5; 30,0; 37,5; 45,0 ir 75,1  $\mu\text{M/l}$  vandeniniai tirpalai.

**1 lentelė.** Tyrimams naudoti junginiai

Junginys	Cheminė formulė	Junginio pavadinimas
2		2-([2-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)ilacetil]hidrazino)metil} butano dirūgštis ( <b>2</b> )
5		5-Okso-1-([3-(2-okso-1,3-benzoksazol-3( <i>2H</i> )-il)propan]amino)pirolidin-3-karboksirūgštis ( <b>5</b> )
IAR		3-Indolilacto rūgštis
St-14		3-(3-Benzoksazonil)propano rūgšties natrio druska

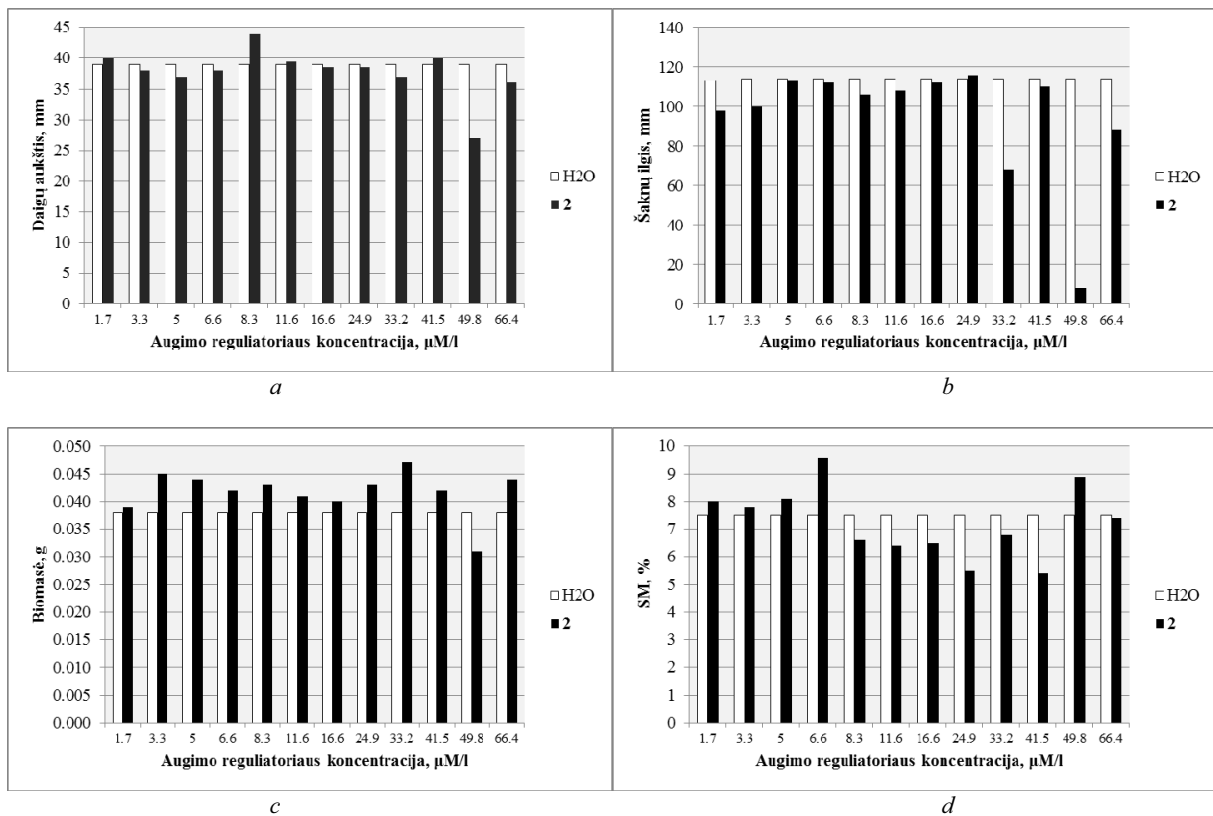
Naujai susintetintų junginių **2** ir **5** biologinio aktyvumo tyrimai buvo atlikti Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Organinės chemijos katedroje, Biotechnologijos laboratorijoje. Rapsų „Sponsor“ sėklos prieš jas daiginant *Petri* lėkštelėse ar maitinamojoje Murashige ir Skoog (MS) terpėje sterilintos 70 % C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH tirpale 3 min, 10 min 10 % NaClO tirpale ir 3 kartus praplautos steriliu vandeniu [10]. Sėklų sterilinimas ir daiginimas atliktas laminare (*Telstar BV-100*) aseptinėmis sąlygomis. Sterilintos rapsų sėklos buvo daigintos stiklinėse *Petri* lėkštelėse (vienoje lėkštelėje – 10 sėklų) ant sterilaus filtro, sudrėkinto 3 ml junginių **2** ir **5** skirtingų koncentracijų vandeniniais tirpalais. Kontroliniame variante rapsų sėklos daigintos steriliame distiliuotame vandenyje be augimo reguliatorių. *Petri* lėkštelės su rapsų sėklomis buvo laikomos termostate 25 °C temperatūroje 10 dienų. Bandytas kartotas 3 kartus. Po 10 dienų išmatuotas daigelių aukštis (mm), šaknų ilgis (mm), įvertinta biomasė (g) ir apskaičiuotas sausųjų medžiagų kiekis (SM) (%). Tokiomis pačiomis sąlygomis atliktas ir rapsų daiginimas ant filtro, sudrėkinto 3-indolilacto rūgšties bei 3-(3-benzoksazonil)propano rūgšties natrio druskos vandeniniu tirpalu.

Tiriamųjų junginių poveikiui rapsams giliau įvertinti *in vitro* buvo naudotos Murashige ir Skoog (MS) maitinamosios terpės, kurios buvo papildytos junginių **2** ir **5** atitinkamų koncentracijų tirpalais, taip pat naudotos

MS terpės, papildytos 3-indolilacto rūgštimi (MS + **IAR**), 3-(3-benzoksazonil)propano rūgšties natrio druska (MS + **St-14**). Maitinamosios terpės (MS) buvo sudarytos iš šių komponentų: makroelementų (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), mikroelementų (KJ, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O), geležies šaltinio (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O), organinių priedų (mioinozitolio, nikotino rūgšties, piridoksino hidroklorido, tiamino hidroklorido, glicino), anglies šaltinio (sacharozės) ir agarų. Atliekant eksperimentą buvo naudotos MS terpės, kurios pH = 5,7. Maitinamosios terpės buvo sterilintos autoklave (*Certoclav*) 120 °C 15 min. Sterilintos rapsų sėklos į MS terpes buvo pasodintos laminare (*Telstar BV-100*), augintos šviesoje 20–22 °C temperatūroje 15 dienų. Po 15 dienų buvo išmatuotas rapsų daigelių aukštis (mm), šaknų ilgis (mm), įvertinta biomasė (g) ir apskaičiuotas sausųjų medžiagų kiekis (SM) (%).

## Rezultatai ir jų aptarimas

*Junginio 2 biologinio aktyvumo įvertinimas daiginant rapsus in vitro.* Praėjus daiginimo periodui (10 dienų), buvo įvertinti šie augalo parametrai: daigų aukštis (mm), šaknų ilgis (mm), biomasė (g) ir apskaičiuotas sausųjų medžiagų kiekis (%). Rezultatai pateikti 1 paveiksle.

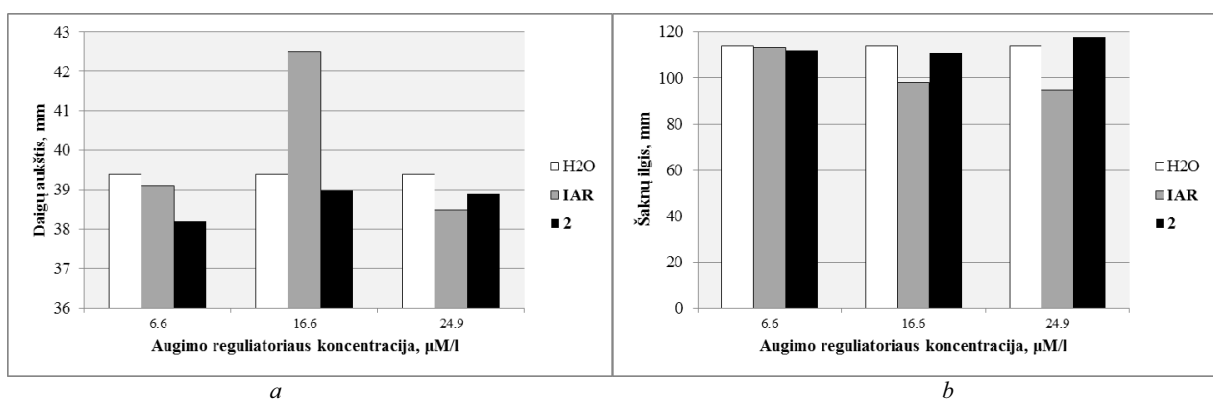


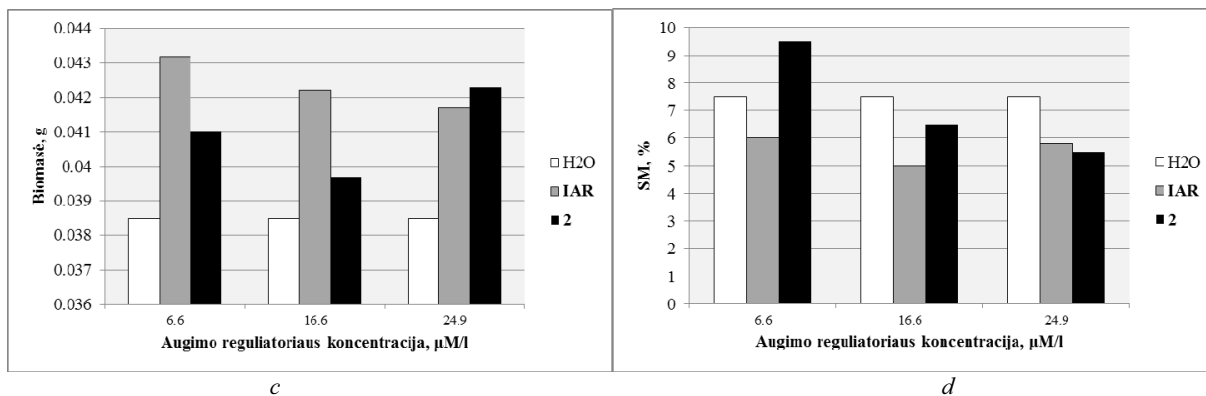
1 pav. Junginio 2 įtaka rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) daiginant rapsus *in vitro*

Tyrimų rezultatai parodė (1 pav.), kad aukščiausi rapsų daigai užaugo junginio 2 8,3  $\mu\text{M/l}$  koncentracijos tirpale. Dėl šio junginio poveikio rapsų daigai buvo 1,13 karto aukštesni, palyginti su kontroliniu variantu, tačiau šaknų ilgis nedaug padidėjo tik augalams augant 24,9  $\mu\text{M/l}$  koncentracijos tirpale. Dėl junginio 2 (konc. 33,2  $\mu\text{M/l}$ ) poveikio biomasa padidėjo 1,3 karto, palyginti su kontroliniu variantu. Tirtas junginys (konc. 6,6  $\mu\text{M/l}$ ) taip pat padidino sausųjų medžiagų kiekį.

Atlikus tyrimą, atrinktos trys junginio 2 koncentracijos, kurioms esant rapsai augo geriausiai: 6,6  $\mu\text{M/l}$ , 16,6  $\mu\text{M/l}$  ir 24,9  $\mu\text{M/l}$ . Šie rezultatai buvo palyginti su duomenimis, gautais daiginant rapsus IAR junginio tirpaluose, esant toms pačioms koncentracijoms.

3-Indolilacto rūgšties (IAR) ir junginio 2 biologinio aktyvumo palyginimas daiginant rapsus *in vitro*. Tyrimo rezultatai pateikti 2 paveiksle.



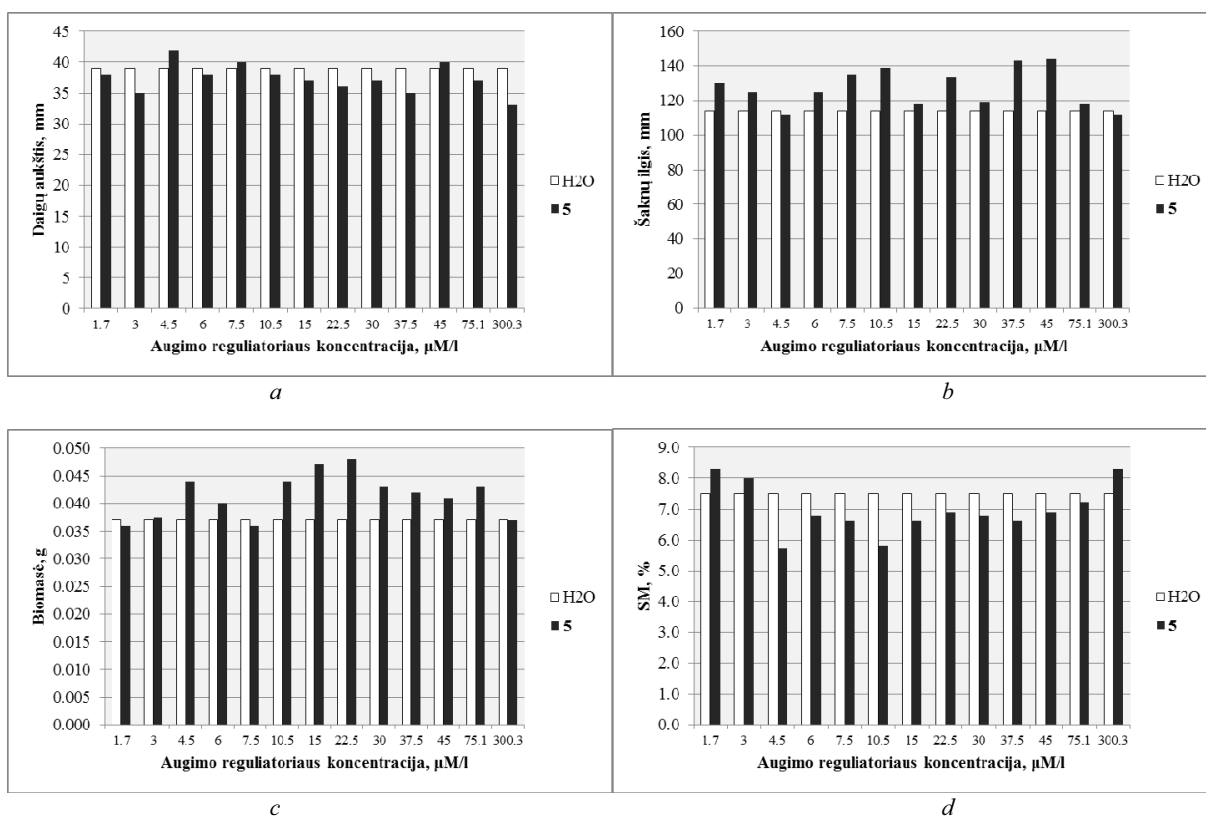


2 pav. 3-Indolilacto rūgšties (IAR) ir junginio 2 poveikio rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) palyginimas daiginant rapsus *in vitro*

Iš pateiktų rezultatų matyti (2 pav.), kad junginys 2 rapsų daigų aukščio nepadidino. Daigų augimą labiausiai skatino junginio IAR (konc. 16,6 µM/l) tirpalas. Dėl junginio 2 poveikio šaknų ilgis, palyginti su kontroliniu variantu, padidėjo nedaug, tačiau jis stimuliuo aktyviau nei IAR. Biomassės prieaugį junginys 2 ir IAR skatino esant visoms pasirinktoms koncentracijoms, palyginti su

kontroliniu variantu. Biomassės prieaugį junginys 2 (konc. 24,9 µM/l) padidino 1,1 karto, lyginant su kontroliniu variantu. Sausųjų medžiagų kiekis buvo 1,3 karto didesnis rapsuose, augusiuose junginio 2 6,6 µM/l tirpale, palyginti su kontroliniu variantu.

Junginio 5 biologinio aktyvumo įvertinimas daiginant rapsus *in vitro*. Rezultatai pateikti 3 paveiksle.



3 pav. Junginio 5 įtaka rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) daiginant rapsus *in vitro*

Kaip matyti iš tyrimų rezultatų (3 pav.), junginys 5 rapsų daigų aukščiui didelės neturėjo. Geriausiai rapsų šaknų augimą skatino junginio 5 45 µM/l koncentracijos tirpalas. Šaknys čia buvo 1,3 karto ilgesnės, palyginti su rapsais, augintais kontroliniame variante. Biomassės prieaugį labiausiai padidino junginio 5 22,5 µM/l koncentracijos tirpalas, kuris buvo 1,3 karto didesnis nei

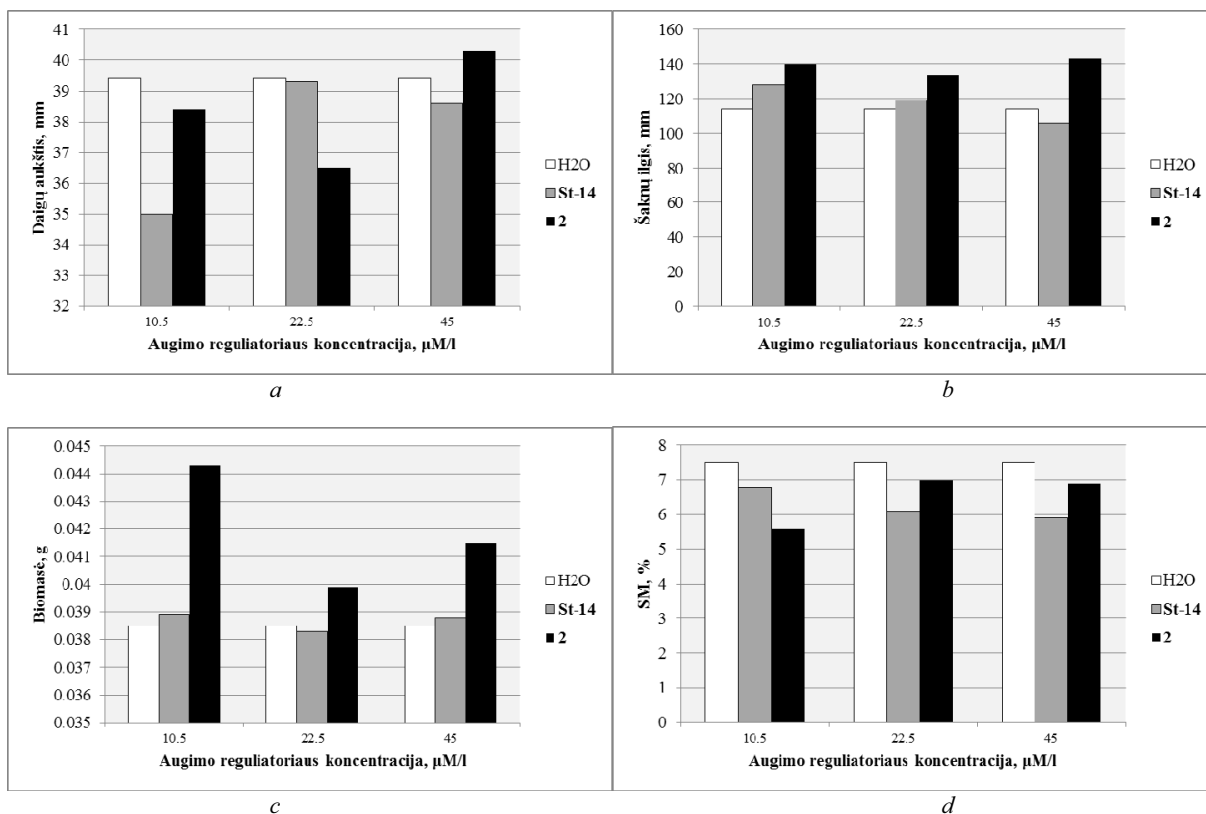
kontroliniame variante. Didžiausias sausųjų medžiagų (8,3 %) padidėjimas buvo nustatytas dėl junginio 5 1,7 µM/l koncentracijos tirpalo poveikio.

Atlikus tyrimą, buvo atrinktos trys junginio 5 koncentracijos, kurioms esant rapsų šaknys buvo ilgiausios: 10,5 µM/l (139 mm), 22,5 µM/l (134 mm) ir 45,0 µM/l (144 mm). Šie rezultatai buvo palyginti su

duomenimis, gautais daiginant rapsus junginio **St-14** tirpale esant toms pačioms koncentracijoms.

*3-(3-Benzoksazonil)propano rūgšties natrio druskos (St-14) ir junginio 5 biologinio aktyvumo*

*palyginimas daiginant.* Tyrimo rezultatai pateikti 4 paveiksle.

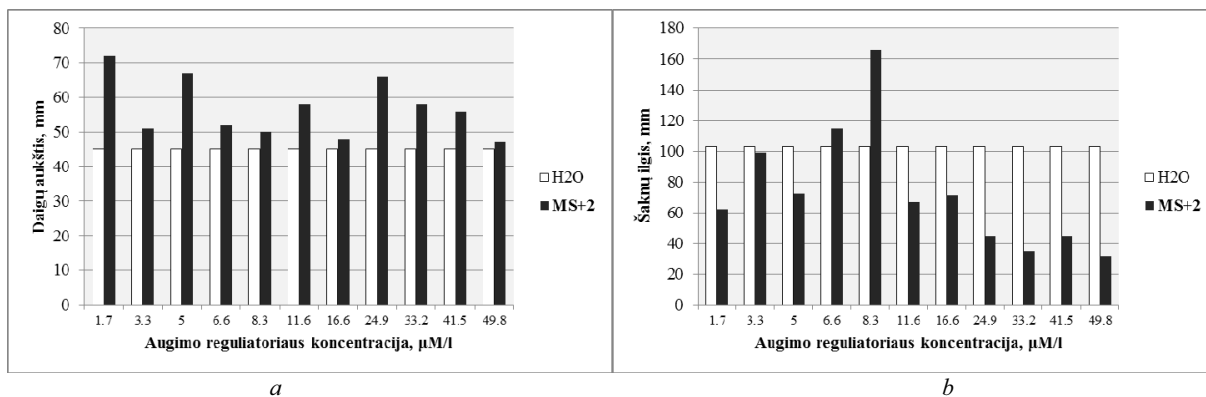


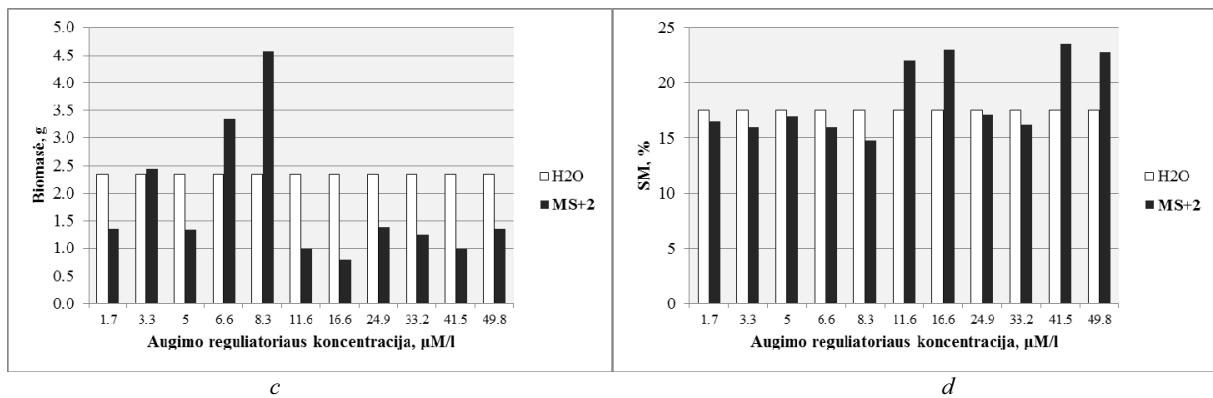
**4 pav.** 3-(3-Benzoksazonil)propano rūgšties natrio druskos (**St-14**) ir junginio **5** poveikio rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) palyginimas daiginant rapsus *in vitro*

Iš gautų rezultatų matyti (4 pav.), kad daigų aukščiui ir šaknų ilgiui didžiausią įtaką turėjo tik junginio **5** 45 µM/l koncentracijos tirpalas, kuris šiuos parametrus padidino 1,02 ir 1,25 karto, palyginti su kontroliniu variantu. Junginio **St-14** poveikis daigų aukščiui buvo mažiausias, palyginti su junginiu **5** ir kontroliniu variantu. Visose pasirinktose koncentracijose junginys **5** skatino biomasės prieaugį, kuris buvo 1,15 karto didesnis šio junginio 10,5 µM/l koncentracijos tirpale, palyginti su

kontroliniu variantu. Junginys **St-14** biomasės prieaugiui didelės įtakos neturėjo. Sausųjų medžiagų kiekio nepadidino nei junginys **5**, nei **St-14**.

*Junginio 2 biologinio aktyvumo įvertinimas, auginant rapsus MS terpėje.* Praėjus auginimo periodui (15 dienų), buvo įvertinti šie augalo parametrai: daigų aukštis (mm), šaknų ilgis (mm), biomasė (g) ir apskaičiuotas sausųjų medžiagų kiekis (%). Rezultatai pateikti 5 paveiksle.



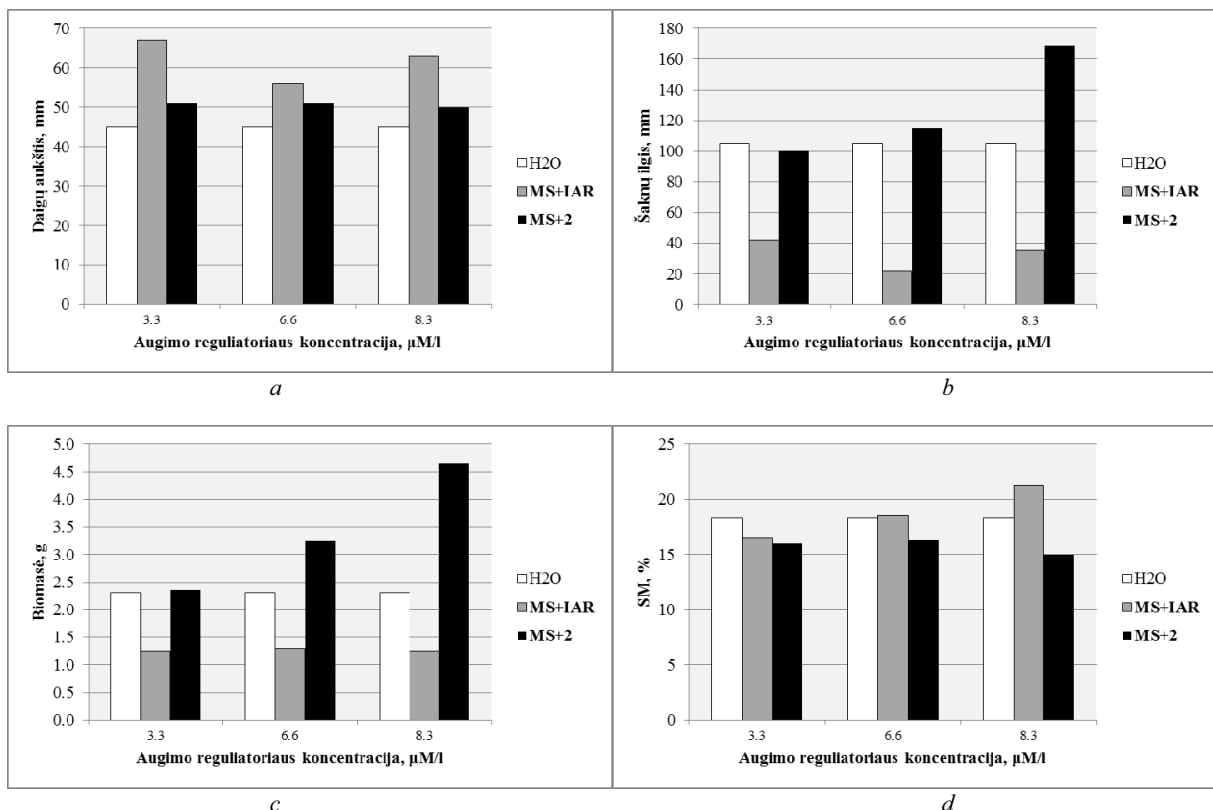


5 pav. Junginio 2 įtaka rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) auginant rapsus MS terpėje

Iš gautų tyrimo rezultatų matyti (5 pav.), kad rapsų daigai buvo didžiausi augalams augant MS terpėse, papildytose 2 junginiu. Gauta, kad dėl šio junginio (konc. 1,7 µM/l) poveikio daigų aukštis buvo 1,6 karto didesnė, palyginti su kontroliniu variantu. Ilgiausios šaknys (166 mm) ir didžiausia biomasa (4,571 g) buvo rapsų, augusių MS terpėje, papildytoje junginiu 2 (konc. 8,3 µM/l). Šie parametrai buvo 1,13 ir 1,95 karto didesni, palyginti su kontroliniu variantu. Didžiausias kiekis sausųjų medžiagų buvo rapsuose, augusiuose MS terpėje, papildytoje junginiu 2 (konc. 41,5 µM/l).

Atlikus tyrimą, buvo atrinktos trys junginio 2 koncentracijos, kurioms esant daigų šaknys buvo ilgiausios: 3,3 µM/l (99 mm), 6,6 µM/l (115 mm) ir 8,3 µM/l (166 mm). Šie rezultatai buvo palyginti su duomenimis, gautais auginant rapsus IAR papildytoje MS terpėje, esant toms pačioms koncentracijoms.

3-Indolilacto rūgšties (IAR) ir junginio 2 biologinio aktyvumo palyginimas auginant rapsus MS terpėje. Tyrimo rezultatai pateikti 6 paveiksle.



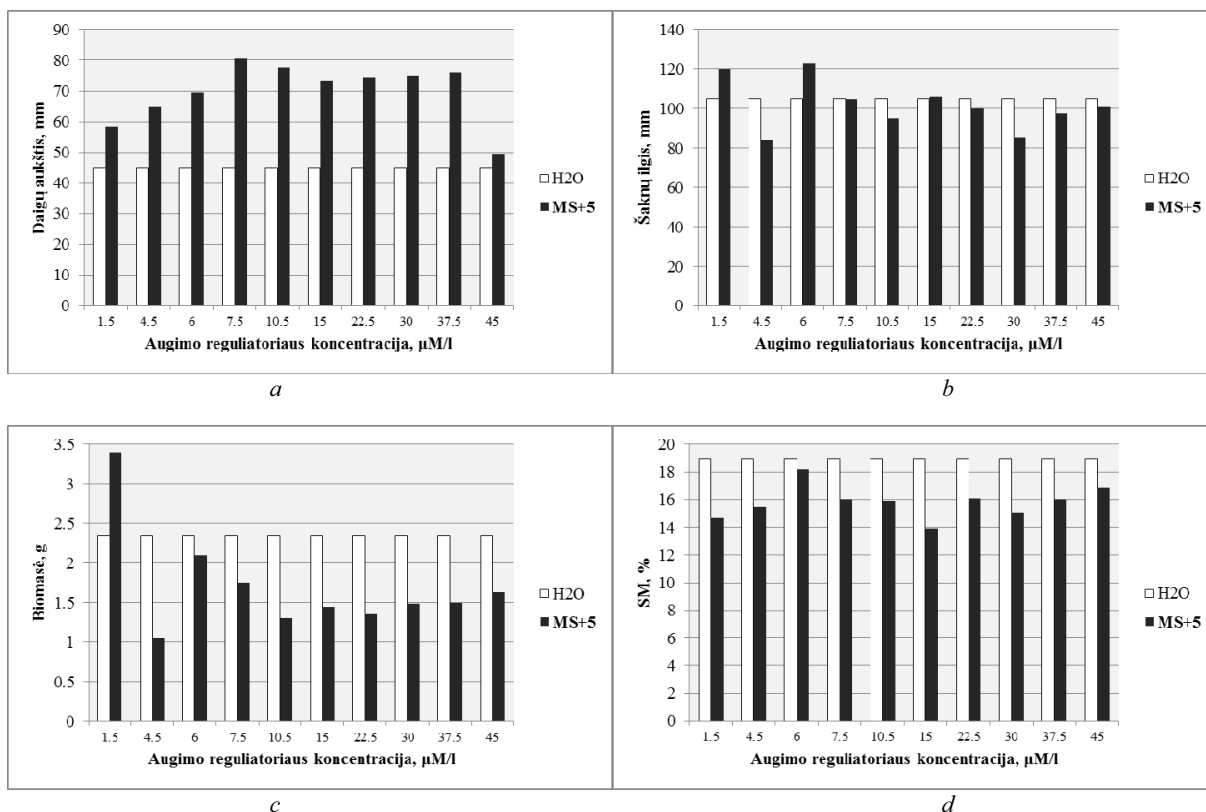
6 pav. 3-Indolilacto rūgšties (IAR) ir junginio 2 poveikio rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) palyginimas auginant rapsus MS terpėje

Iš gautų rezultatų matyti (6 pav.), kad didžiausi daigai išaugo MS terpėse, papildytose IAR ir junginiu 2 visose koncentracijose, palyginti su MS terpėje be

augimo reguliatorių augusiais rapsais. Šaknų ilgį ir biomasės prieaugį IAR slopino, o junginys 2 (8,3 µM/l) skatino šaknų augimą bei biomasės prieaugį atitinkamai

1,6 ir 2 karto, palyginti su kontroliniu variantu. Daugiausiai sausųjų medžiagų kiekis padidėjo rapsuose, augusiuose MS terpėje su IAR (konc. 8,3  $\mu\text{M/l}$ ).

*Junginio 5 biologinio aktyvumo įvertinimas, auginant rapsus MS terpėje.* Rezultatai pateikti 7 paveiksle.

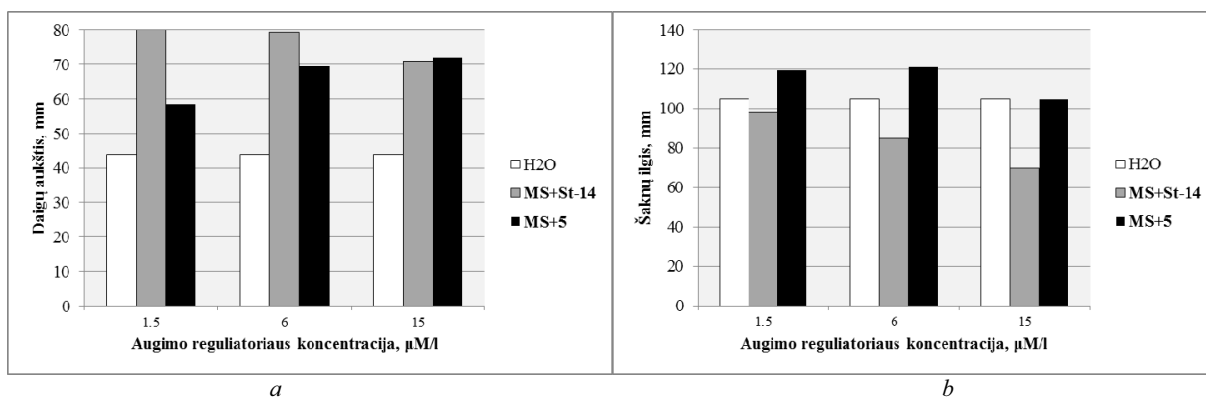


**7 pav.** Junginio 5 įtaka rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) auginant rapsus MS terpėje

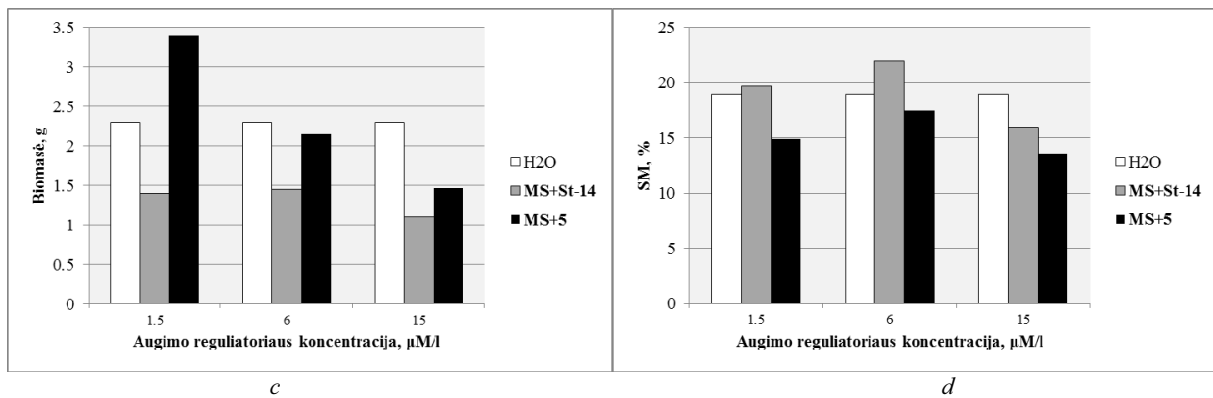
Iš rezultatų matyti (7 pav.), kad rapsų daigai buvo aukščiausi augalams augant MS terpėje su junginiu 5 esant visoms tirtoms koncentracijoms. Dėl šio junginio (konc. 7,5  $\mu\text{M/l}$ ) poveikio daigai buvo 1,8 karto aukštesni, palyginti su kontroliniu variantu. Ilgiausios rapsų šaknys buvo MS terpėje su junginiu 5 (konc. 6  $\mu\text{M/l}$ ), dėl kurio poveikio rapsų šaknys buvo ilgesnės 1,17 karto, palyginti su kontroliniu variantu. Didžiausias biomasės prieaugis (3,4 g) buvo gautas, kai junginio 5 koncentracija MS terpėje buvo 1,5  $\mu\text{M/l}$ . Dėl junginio 5 poveikio sausųjų medžiagų kiekis sumažėjo.

Atlikus tyrimą buvo atrinktos trys junginio 5 koncentracijos, kurioms esant daigų šaknys buvo ilgiausios: 1,5  $\mu\text{M/l}$  (120 mm), 6,0  $\mu\text{M/l}$  (123 mm) ir 15,0  $\mu\text{M/l}$  (106 mm). Šie rezultatai buvo palyginti su duomenimis, gautais auginant rapsus junginiu St-14 papildytoje MS terpėje esant tom pačioms koncentracijoms.

*3-(3-Benzoksazonil)propano rūgšties natrio druskos (St-14) ir junginio 5 biologinio aktyvumo palyginimas auginant rapsus MS terpėje.* Tyrimo rezultatai pateikti 8 paveiksle.







8 pav. St-14 ir junginio 5 poveikio rapsų daigų aukščiui (a), šaknų ilgiui (b), biomasei (c) ir sausųjų medžiagų kiekiui (d) palyginimas auginant rapsus MS terpėje

Tyrimo rezultatai parodė (8 pav.), kad aukščiausi rapsų daigai buvo MS terpėje su junginiu St-14 (konc. 1,5 µM/l). Dėl šio junginio poveikio rapsų daigai buvo 1,82 karto aukštesni, palyginti su kontroliniu variantu, ir 1,4 karto didesni, palyginti su junginiu 5. Ilgiausios rapsų šaknys išaugo junginiu 5 (konc. 6 µM/l) papildytoje MS terpėje. Čia šaknų ilgis padidėjo 1,2 ir 1,4 karto, palyginti su kontroliniu variantu ir junginiu St-14. Didžiausias rapsų biomases prieaugis (3,4 g) buvo gautas, kai rapsai augo MS terpėje su 5 junginiu (1,5 µM/l), tačiau junginys St-14 slopino jos prieaugį. Didžiausią poveikį rapsų sausųjų medžiagų kiekiui turėjo junginys St-14 (konc. 6 µM/l), kuris padidino jų kiekį 1,2 karto, palyginti su kontroliniu variantu, ir 1,3 karto, palyginti su junginiu 5.

## Išvados

- Iš žinomų auksinų – 3-indolilacto ir 3-(3-benzoksazonil)propano rūgščių susintetinti nauji junginiai – 2-{{2-(1H-indol-3-ilacetil)hidrazino}metil}butano dirūgštis ir 5-okso-1-({3-[2-okso-1,3-benzoksazol-3(2H)-il]propanoil}amino)-3-pirolidin-karboksirūgštis, galintys pasižymėti auksinų ir osmolitų savybėmis, įrodyta jų struktūra.
- Ištirtas susintetintų junginių poveikis vasarinių rapsų (*Brassica napus* L.) augimui *in vitro*, palygintas jų efektyvumas su žinomais augalų augimo stimulatoriais – 3-indolilacto rūgštimi (IAR) ir 3-(3-benzoksazonil)propano rūgšties natrio druska (St-14). Nustatyta, kad naujieji junginiai yra ne mažiau aktyvūs ir todėl gali būti siūloma juos tirti natūraliomis lauko sąlygomis auginant rapsus.

## Literatūra

- Juknevičienė Ž., Venskutonienė E. Imituotų šalnų poveikis bulvių fotosintezės pigmentų kitimui // LŽUŲ Mokslo Darbai, Biomedicinos Mokslai. 2009. Vol. 85. P. 23–27.
- Darginavičienė J., Novickienė L. Augimo problemos šiuolaikinėje augalų fiziologijoje. Lietuvos mokslų akademijos leidykla, Vilnius, 2002. 100 p.
- Žiaukienė D., Jonuškienė I., Mickevičius V., Burbulis N. N-Pakeistų β-aminorūgščių darinių įtaka vasarinių rapsų (*Brassica napus* L.) sėklų derliui ir jų kokybei // Cheminė technologija. 2009. Vol. 53. N 4. P. 5–10.
- Srivastava L. M. Plant growth and development: hormones and environment. Amsterdam, Sydney, Academic Press, 2002. 772 p.
- Žiaukienė D., Mickevičius V., Jakienė E., Brazienė Z. N-(4-Metoksi-2-nitrofenil)-β-a-lanino natrio druskos poveikis vasarinių rapsų (*Brassica napus* L.) derliaus kokybei // Cheminė technologija. 2012. Vol. 59. N 1. P. 46–53.  
<http://dx.doi.org/10.5755/j01.ct.59.1.1529>
- Ludwig-Muller J. Indole-3-butyric acid in plant growth and development // Plant Growth Regulation. 2000. Vol. 32. P. 219–230.  
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1010746806891>
- Žiaukienė D., Mickevičius V., Jakienė E., Brazienė Z. Kai kurių β-alanino darinių poveikis vasarinių rapsų (*Brassica napus* L.) augimui ir sėklų derliui // Cheminė technologija. 2010. Vol. 56. N 3–4. P. 11–18.
- Velička R. Sėkloms auginamų rapsų agrotechnikos moksliniai pagrindai // Žemės ūkio mokslai. 2002. Nr. 1. P. 27–40.
- Eckardt N. A. New insight into auxin biosynthesis // The Plant Cell. 2001, Vol. 13. N 1. P. 1–3.  
<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.13.1.1>
- Grossmann K., Kwiatkowski J., Tresch S. Auxin herbicides induce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> overproduction and tissue damage in cleavers (*Gallium aparine* L.) // Journal of Experimental Botany. 2001. Vol. 52. P. 1811–1816.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/52.362.1811>
- Mickevičius V., Beresnevičius Z., Jakienė E. Synthesis and biological activity of N-aryl-β-alanines and products of their cyclization // Biologija. 1999. Vol. 1. P. 29–34.
- Burg M. B., Ferraris J. D. Intracellular organic osmolytes: function and regulation // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. P. 7309–7313.  
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.R700042200>

E. Kovaitė, I. Ramanauskaitė, I. Jonuškienė,  
K. Anusevičius, V. Mickevičius

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF THE  
INFLUENCE OF NEW AMINO ACID DERIVATIVES  
WITH INDOLE AND BENZOXAZOLINONE  
MOIETIES ON THE RAPESEED (*BRASSICA NAPUS*  
L.) GROWTH *IN VITRO*

**S u m m a r y**

Rapeseed (*Brassica napus* L.) is one of the world's most important sources of vegetable oil and protein meal used for food and for industrial purposes. Primary and secondary metabolites stored in rapeseed depend on many factors: growth regulators, temperature, water stress, nutrients (nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, boron, sulfur) and their amount, soil acidity, evolution change, and plant diseases. Indole-3-acetic acid (IAA) is one of the most important natural auxins. 3-[2-Oxo-1,3-benzoxazol-3(2*H*)-yl]propanoic acid is known as a synthetic auxin. The sodium salt of this compound, stilite-14, has been studied for 10 years while growing sugar beets in Lithuania. Natural and synthetic auxins are known to promote rapeseed root growth. New indole-3-acetic acid and 3-

[2-oxo-1,3-benzoxazol-3(2*H*)-yl]propanoic acid derivatives containing  $\beta,\gamma$ -amino acid or 3-carboxy-5-oxopyrrolidine fragments from the corresponding hydrazides were synthesized.

It was determined that 2-({2-[2-(1*H*-indol-3-yl)acetyl]hydrazino}methyl)succinic acid (8.3  $\mu\text{M/l}$ ) increased the length of rapeseed roots in the MS medium by 1.6 times in comparison with rapeseed, which were grown in MS medium without growth regulators, whereas IAA decreased their length. Also, 2-({2-[2-(1*H*-indol-3-yl)acetyl]hydrazino}methyl)succinic acid (8.3  $\mu\text{M/l}$ ) increased rapeseed biomass by 2 times in comparison with control sample.

It was determined that 5-oxo-1-({3-[2-oxo-1,3-benzoxazol-3(2*H*)-yl]propanoyl}amino)-3-pyrrolidinecarboxylic acid (6  $\mu\text{M/l}$ ) increased the length of rapeseed roots in the MS medium by 1.2 times in comparison with control sample, but the sodium salt of 3-(3-benzoxazolonyl)propanoic acid decreased their length at all concentrations. Also, 5-oxo-1-({3-[2-oxo-1,3-benzoxazol-3(2*H*)-yl]propanoyl}amino)-3-pyrrolidinecarboxylic acid (1.5  $\mu\text{M/l}$ ) increased rapeseed biomass, but the sodium salt of 3-(3-benzoxazolonyl)propanoic acid (1.5  $\mu\text{M/l}$ ) decreased the biomass by 39.1 % in comparison with the control sample.