

N-(2-hidroksifenil)- β -alaninų ir jų sąveikos su 2,3-dichlor-1,4-naftochinonu produktų įtaka miežių (*Hordeum vulgare* L.) vystymuisi ir flavonoidų kiekiui

R. Stankevičienė, I. Jonuškienė, R. Baranauskaitė, V. Mickevičius

Kauno technologijos universitetas,
Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva
El. paštas: ilona.jonuskiene@ktu.lt

Gauta 2010 m. lapkričio 29 d.; priimta spaudai 2010 m. gruodžio 10 d.

Susintetinti N-(2-hidroksifenil)- β -alaninai, N-karboksialkilpakeisti benz[b]fenoksazin-6,11-dionai, ištirta jų įtaka miežių 'Barke' vystymuisi ir flavonoidų kiekio susidarymui. Nustatyta, kad miežių daigai, šaknys bei biomasė buvo didžiausia sėklas sudrėkinus 1,5 mg/l koncentracijos 3-(6,11-diokso-6H-benz[b]fenoksazin-12(11H)-il)butano rūgšties tirpalu. Miežių daigai užaugo 22 % aukštesni, šaknys 22 % ilgesnės, biomasė padidėjo 16 %, palyginus su kontroliniu variantu. Išdžiovintoje miežių vegetatyvinėje dalyje kiekis flavonoidų, išskirtų iš miežių, kurių sėklos buvo sudrėkintos 1,5 mg/l koncentracijos 3-(6,11-diokso-6H-benz[b]fenoksazin-12(11H)-il)butano rūgšties tirpalu, nustatytas atitinkamai 4,4 ir 3,1 karto didesnis, palyginus su kiekiu flavonoidų, išskirtų iš miežių, apdorotų žinomų augimo stimuliatorių – Stilito-14 ir vitamino K3 – tirpalais.

Įvadas

Pastaraisiais dešimtmečiais naftochinono dariniais domimasi gerokai labiau. Naftochinono darinių aptinkama augaluose, mikroorganizmuose ir kai kuriuose gyvūnų organizmuose. Šios klasės junginiai naudojami įvairiose pramonės srityse – kosmetikoje, tekstilėje, kaip maisto dažai, taip pat gydymo tikslams (priešvėžiniai, priešuždegiminiai ir antimikrobiniai preparatai) [1–6]. Naftochinonai taip pat yra kai kurių kompleksinių junginių pirmtakai [7]. Ilgą laiką chinoidinę grupę turintys junginiai – chinonai, naftochinonai, antrachinonai – asocijavosi su spalvą turinčiais junginiais, jų panaudojimu tekstilės pramonėje (pvz., alizarinas, fenantreno mėlynė). Tačiau tyrimai parodė, kad šie junginiai yra biologiškai aktyvios medžiagos, turinčios platų veikimo spektrą ir tinkančios vaistų bei žemės ūkio augalų apsaugos priemonėms gaminti. Nuo praėjusio amžiaus penktojo dešimtmečio įvairių 1,4-naftochinono darinių sintezei pradėti naudoti lengvai gaunami komerciniai 2,3-halogen-1,4-naftochinonai, ypač 2,3-dichlor-1,4-naftochinonas. Tai puikus sintonas įvairiems dažikliams, katalizatoriams, vaislinėms ir biologiškai aktyvioms medžiagoms sintetinti.

Šiuo metu žinoma daug sintetinių augimo reguliatorių, kurie pasižymi panašiomis savybėmis kaip fitohormonai bei yra svarbūs augalų biotechnologijai, žemės ūkiui ir sodininkystei. Lietuvoje augalų biotechnologiniai metodai taikomi naujoms augalų formoms gauti bei dauginti. Nustatyta, kad augalų vystymosi procesas priklauso nuo fitohormonų ir sintetinių augimo reguliatorių santykio bei koncentracijos terpėje [8]. Tarp įvairių klasių junginių, pasižyminčių augalų augimą reguliuojančiu poveikiu, žinomi ir N-pakeistų β -aminorūgščių dariniai, didinantys lauko augalų derlių ir gerinantys jo kokybę [9–11].

Miežiai yra vieni seniausių javų pasaulyje. Jų grūdai naudojami alaus, tekstilės, konditerijos, farmacijos pra-

monėje. Taip pat žinoma, kad miežių daigai kaupia biologiškai aktyvias medžiagas. Juose yra kalcio, geležies, magnio, kalio, vitaminų E ir C, polifenolinių junginių [12]. Miežių vegetatyvinėse dalyse esantys flavonoidai pasižymi antioksidaciniu ir antimikrobinu poveikiu. Mokslininkai ištyrė, kad miežių daigų ekstraktai padeda gydyti ligas, todėl jie dažnai naudojami tiek gydymo, tiek profilaktikos tikslams. Flavonoidų kaupimąsi miežiuose lemia daug veiksnių. Pirmiausia jų kiekis, kaupimosi kiekybiniai bei kokybiniai dėsniniai priklauso nuo miežių rūšies, amžiaus, augimo ir vystymosi fazės bei ekologinių ir geografinių veiksnių. Ištirta, kad daugiausia antioksidacinių medžiagų susikaupia miežių ankstyvoje vystymosi stadijoje, todėl šiuo metu ieškoma naujų biotechnologinių metodų kuo didesniai flavonoidų kiekiui gauti iš miežių daigų [13].

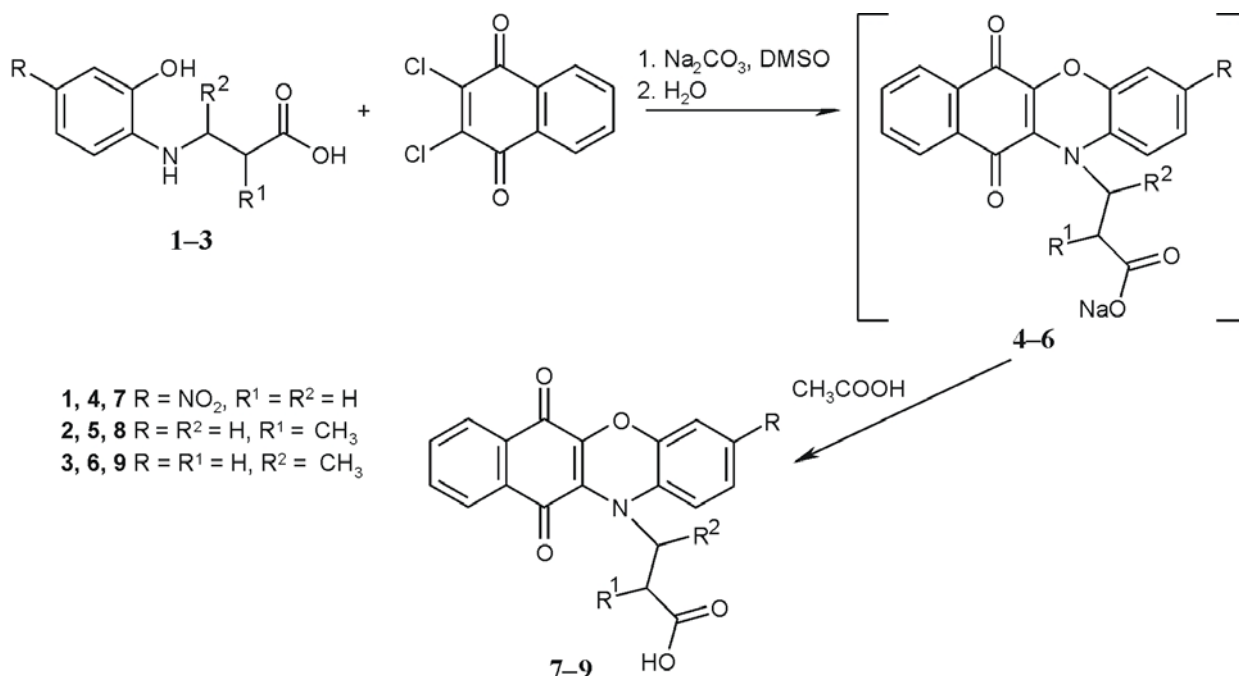
Šio darbo tikslas – susintetinti N-karboksialkilpakeistus benz[b]fenoksazin-6,11-dionus, turinčius 1,4-naftochinono ir β -alanino fragmentus, laboratorinėmis sąlygomis ištirti šių junginių ir jų pirmtakų – N-(2-hidroksifenil)- β -alaninų – įtaką miežių (*Hordeum vulgare* L.) augimui, flavonoidų kiekio susidarymui ir palyginti jų poveikį su žinomais augimo stimuliatoriais.

Tyrimo metodai ir medžiagų gavimo būdai

Siekiant susintetinti kondensuotas heterociklines sistemas, molekulėje turinčias naftochinono ir β -alanino fragmentus, buvo ištirtos N-(2-hidroksifenil)- β -alaninų ir jų α - ir β -metildarinių reakcijos su 2,3-dichlor-1,4-naftochinonu. Tokie junginiai gali pasižymėti spalvinėmis savybėmis, o sudėtyje esantys β -aminorūgšties ir naftochinono fragmentai gali sąlygoti jų biologinį aktyvumą.

N-(2-Hidroksifenil)- β -alaninai buvo susintetinti pagal darbe [14] aprašytą metodiką. N-(2-Hidroksifenil)- β -alaninų (1–3) reakcijos su 2,3-dichlor-1,4-naftochinonu

(schema) atliktos dimetilsulfoksido (DMSO), esant natrio karbonato (Na_2CO_3) išsiskiriančiam vandenilio chloridui surišti, mišinį maišant kambario temperatūroje 14 h. Po to reakcijos mišiniai praskiesti vandeniu. Šiose reakcijose susidaro tarpiniai produktai **4–6** – pakeistų karboksirūgščių natrio druskos, kurių vandeninius tirpalus parūgštinus acto rūgštimi, gauti žali (**7**) ir mėlyni (**8, 9**) junginiai.



Schema. Benz[*b*]fenoksazin-6,11-dionų sintezė

Susintetintų junginių struktūrą patvirtina elementinės analizės, ^1H ir ^{13}C BMR, MS bei IR spektrų duomenys.

BMR spektrai užrašyti *Varian Unity Inova* (^1H 300 MHz, ^{13}C 75 MHz) spektrometru. Vidiniu standartu naudotas tetrametilsilanas (TMS). Cheminiai poslinkiai δ skalėje išmatuoti milijoninėmis dalimis (m.d.). IR spektrai užrašyti spektrometru *PERKIN ELMER Spectrum Bx FT-IR* (KBr tabl.), masių spektrai – *Waters ZQ 2000* spektrometru (cheminė jonizacija atmosferos slėgyje (APCI) 25 V). Lydymosi temperatūros nustatytos atviraime kapiliare. Reakcijos eiga stebėta ir gautų produktų grynumas nustatytas plonasluoksnės chromatografijos būdu, naudojant *Merc Silica gel 60 F₂₅₄* plokšteles.

BENDRASIS BENZ[*b*]FENOKSAZIN-6,11-DIONŲ 7–9 SINTEZĖS BŪDAS. Atitinkamo **1–3** N-(2-hidroksifenil)-β-alanino (5 mmol), 2,3-dichlor-1,4-naftochinono (5 mmol, 1,14 g), Na_2CO_3 (19 mmol, 2 g) ir DMSO (30 ml) mišinys maišomas 14 h, praskiedžiamas 300 ml vandens ir maišomas 5 min. Neištirpusios nuosėdos atskiriamos filtruojant, o filtratas parūgštinamas acto rūgštimi iki pH 6. Iškritę **7–9** junginių kristalai filtruojami, plaujami vandeniu, gryninami persodinant iš 200 ml 5 % Na_2CO_3 tirpalo, filtratą parūgštinant acto rūgštimi iki pH 6.

Pastebėta, kad susintetinti junginiai **7–9** stiprioje šarmi-
nėje terpėje yra nepatvarūs ir skyla iki nespaltvotų jun-
ginių. Todėl susintetintiems junginiams gryninti buvo
naudotas ne NaOH, o Na_2CO_3 . Gautieji junginiai gryninti
tirpinant juos vandeniniame natrio karbonato tirpale,
filtruojant ir filtratą parūgštinant acto rūgštimi iki pH 6.
Procesas kartotas 2 kartus.

3-(3-Nitro-6,11-diokso-6*H*-benz[*b*]fenoksazin-12(11*H*)-il)propano rūgštis (**7**).

Išiga 1,14 g (60 %). Lyd. t. 264–265 °C. ^1H BMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2,70 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH_2CO); 4,07 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH_2); 6,90–7,90 (7H, m, H_{Ar}); 11,00–12,80 (1H, pl. s., OH).

^{13}C BMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 32,21 (CH_2CO); 44,04 (CH_2); 110,23; 114,99; 119,86; 121,96; 124,87; 126,07; 129,23; 130,66; 132,60; 133,73; 133,99; 139,81; 141,18; 142,59; 145,32 (C_{Ar}); 172,68; 174,72; 179,62 (3CO).

IR (KBr), cm^{-1} : 3229 (OH); 1728 (CO); 1658–1648 (2CO).

MS, m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 381$ (100).

Nustatyta, %: C 60,08; H 3,21; N 7,49.

Apskaičiuota $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_7$, %: C 60,01; H 3,18; N 7,37.

2-((6,11-Diokso-6*H*-benz[*b*]fenoksazin-12(11*H*)-il)metil)propano rūgštis (**8**).

Išiga 0,54 g (31 %). Lyd. t. 94–95 °C. ^1H BMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1,09 (3H, d, $J = 7,2$ Hz, CH_3); 2,66–2,84 (1H, m, CH); 3,84–4,38 (2H, m, CH_2); 6,70–8,10 (10H, m, H_{Ar}); 12,10–12,80 (1H, pl. s., OH).

^{13}C BMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 14,76 (CH_3); 37,63 (CH_2); 49,20 (CH); 116,11; 116,97; 124,65; 124,91; 125,25; 125,99; 129,80; 130,81; 132,26; 133,47;

133,94; 134,67; 142,70; 146,21(C_{Ar}); 174,97; 176,13; 180,42 (3CO).

IR (KBr), cm⁻¹: 3180 (OH); 1735; 1705; 1654 (3CO).

MS, m/z (%): [M+H]⁺ = 350 (100).

Nustatyta, %: C 68,61; H 4,42; N 3,85.

Apskaičiuota C₂₀H₁₅NO₅, %: C 68,76; H 4,33; N 4,01.

3-(6,11-Diokso-6H-benz[b]fenoksazin-12(11H)-il)butano rūgštis (9).

Išga 0,95 g (55 %). Lyd. t. 163–164 °C. ¹H BMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 1,5 (3H, d, J = 6,9 Hz, CH₃); 2,56–2,90 (2H, m, CH₂); 4,09–4,24 (1H, m, CH); 6,85–8,00 (8H, m, H_{Ar}), 10,00–12,70 (1H, pl. s., OH).

¹³C BMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ: 20,86 (CH₃); 56,79 (CH₂); 57,23 (CH); 116,20; 120,10; 124,98; 125,02; 125,09; 125,95; 129,92; 130,66; 131,65; 133,60; 133,91; 136,32; 145,18; 148,08 (C_{Ar}); 172,48; 175,65; 180,80 (3CO).

IR (KBr), cm⁻¹: 3270 (OH); 1722; 1672; 1626 (3CO).

MS, m/z (%): [M+H]⁺ = 350 (100).

Nustatyta, %: C 68,31; H 4,33; N 4,08.

Apskaičiuota C₂₀H₁₅NO₅, %: C 68,76; H 4,33; N 4,01.

BIOLOGINIAI TYRIMAI. Junginių N-(2-hidroksi-4-nitrofenil)-β-alanino (1), N-(2-hidroksifenil)-α-metil-β-alanino (2), N-(2-hidroksifenil)-β-metil-β-alanino (3), 3-(3-nitro-6,11-diokso-6H-benz[b]fenoksazin-12(11H)-il)propa-

no rūgšties (7), 2-((6,11-diokso-6H-benz[b]fenoksazin-12(11H)-il)metil)propano rūgšties (8) ir 3-(6,11-diokso-6H-benz[b]fenoksazin-12(11H)-il)butano rūgšties (9) biologinio aktyvumo tyrimai atlikti Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Organinės chemijos katedros Biotechnologijos laboratorijoje daiginant salyklinių miežių (*Hordeum vulgare* L.) 'Barke' sėklas. Palyginimui naudoti augalų augimą stimuliuojantys junginiai – vitaminas K3 (2-metil-1,4-naftochinonas) ir Stilitas-14 (3-(3-benzoksazonil)propano rūgštis natrio druska) [15]. Tirta minėtų junginių 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 10 ir 15 mg/l koncentracijų tirpalų įtaka miežių sėkloms.

Miežių 'Barke' sėklos sterilizuotos išlaikant jas 20 min 10 % dezinfekuojančiame skystyje, 10 min 70 % C₂H₅OH, po to tris kartus praplautos distiliuotu vandeniu [16]. Sėklos daigintos 7 paras tamsoje 25 °C temperatūroje *Petri* lėkštelėse ant filtrinio popieriaus, sudrėkinto 3 ml atitinkamų koncentracijų sintetinių augimo reguliatorių tirpalais [17]. Tokiu pat būdu buvo įvertintas vitamino K3 (Vit. K3) ir Stilito-14 (S-14) tirpalų poveikis miežių daigams, šaknims bei biomasei. Kontroliniam bandiniui naudotas sterilus distiliuotas vanduo. Flavonoidai nustatyti spektrofotometrinio metodu [18].

Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

BIOLOGINIŲ TYRIMŲ REZULTATAI. Tirtų junginių įtakos miežių 'Barke' daigų, šaknų augimui ir jų biomasei tyrimų rezultatai pateikti 1–3 lentelėse. Visų tirtų miežių daigumas buvo 90 %.

1 lentelė. 1, 2, 3, 7, 8, 9 junginių ir Vit. K3, S-14 tirpalų (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 10; 15 mg/l) įtaka miežių daigų aukščiui

Koncentracija, mg/l	Daigų aukštis, cm, kai miežių sėklos apdorotos junginių tirpalais							
	1	2	3	7	8	9	Vit. K3	S-14
Kontrolė	9,02	9,02	9,02	9,02	9,02	9,02	9,02	9,02
0,5	4,31	12,11	4,81	6,54	3,74	9,65	9,48	5,87
1,0	6,39	3,68	5,86	6,17	5,89	9,94	9,47	5,75
1,5	7,26	7,34	6,67	4,00	6,06	11,63	6,63	8,35
2,0	6,44	8,33	6,39	6,68	5,67	10,06	9,99	4,03
2,5	4,49	11,16	5,78	4,16	5,31	9,51	11,53	3,82
5,0	4,87	6,48	6,53	5,65	8,00	11,23	7,27	3,76
10	7,99	9,56	6,15	8,10	5,48	11,01	11,67	6,09
15	10,27	5,76	9,74	8,59	4,30	8,27	6,20	4,70

Pirmajame tyrimo etape buvo tirtas 1–3 N-(2-hidroksifenil)-β-alaninais sudrėkintų miežių sėklų vystymasis daiginant jas 0,5–2,0 mg/l koncentracijų tirpaluose (1 lent.). Atlikti bandymai parodė, kad daigų augimui didžiausią poveikį darė 2 junginio 0,5 mg/l koncentracijos tirpalas. Šio junginio tirpale daigintų miežių daigai buvo atitinkamai 2,63 ir 6,24 cm aukštesni nei miežių, sudrėkintų tos pačios koncentracijos Vit. K3 ir S-14 tirpalais. Padidinus tiriamų medžiagų tirpalų koncentracijas (2,5–15 mg/l) gauta, kad 2,5 ir 10 mg/l Vit. K3 tirpalais sudrėkintų miežių daigai užaugo atitinkamai 2,51

ir 2,65 cm aukštesni, palyginti su kontroliniu bandiniu. Panašiu poveikiu pasižymėjo ir 2 junginys, dėl kurio 2,5 mg/l koncentracijos tirpalo įtakos daigai užaugo 2,14 cm ilgesni, palyginus su kontroliniu bandiniu.

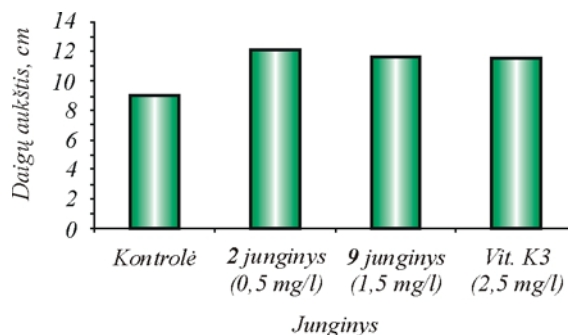
Antrajame bandymų etape ištirta 7–9 benz[b]fenoksazin-6,11-dionų 0,5–2,0 mg/l koncentracijos tirpalų įtaka miežių daigų augimui. Nustatyta, kad miežių daigų augimą labiausiai skatino 9 junginio 1,5 mg/l koncentracijos tirpalas. Padidinus tirpalų koncentracijas (2,5–15 mg/l) pastebėta, kad miežių daigų augimą stimuliuavo 2,5 mg/l ir 10 mg/l koncentracijų Vit. K3 tirpalai bei 9

junginio 5,0 mg/l ir 10 mg/l koncentracijų tirpalai. Sudrėkinus sėklas Vit. K3 tirpalais daigai buvo aukštesni atitinkamai 2,51 ir 2,65 cm, o sudrėkinus 9 junginio tirpalais – 2,21 ir 1,99 cm, palyginus su kontroliniu bandiniu.

Taigi šis tyrimas parodė (1 pav.), kad labiausiai miežių daigų augimą skatino 2, 9 junginių ir Vit. K3 atitinkamai 0,5; 1,5 ir 2,5 mg/l koncentracijų tirpalai.

Įtakos miežių šaknų ilgiui tyrimų rezultatai pateikti 2 lentelėje. Matyti, kad iš 1–3 β-alanino darinių (tirpalų koncentracijos – 0,5–2,0 mg/l) (2 lent.) šaknų augimą labiausiai skatino 1,5 mg/l S-14, 0,5 mg/l Vit. K3 ir 0,5 mg/l 2 junginio koncentracijų tirpalai. Šių junginių tirpaluose daigintų miežių šaknys buvo atitinkamai 1,93, 1,11 ir 0,77 cm ilgesnės, palyginus su kontroliniu bandiniu. 1 ir 3 junginių tirpaluose augusių miežių šaknys užaugo trumpesnės, palyginti su kontroliniu bandiniu. Sėklas sudrėkinus didesnės koncentracijos (2,5–15 mg/l)

tirpalais, nustatyta, kad Vit. K3 (2,5 mg/l) ir 2 junginio (2,5 mg/l) tirpaluose miežių šaknys užaugo atitinkamai 2,34 ir 1,60 cm ilgesnės, palyginus su kontroliniu bandiniu.



1 pav. Miežių daigų augimą skatinantys junginiai

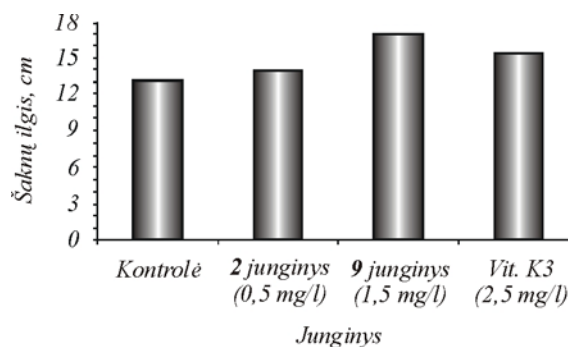
2 lentelė. 1, 2, 3, 7, 8, 9 junginių ir Vit. K3, S-14 tirpalų (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 10; 15 mg/l) įtaka miežių šaknų ilgiui

Koncentracija, mg/l	Šaknų ilgis, cm, kai miežių sėklos apdorotos junginių tirpalais							
	1	2	3	7	8	9	Vit. K3	S-14
Kontrolė	13,17	13,17	13,17	13,17	13,17	13,17	13,17	13,17
0,5	8,08	13,94	7,11	9,70	6,15	13,69	14,28	10,79
1,0	9,35	6,67	6,65	11,45	10,77	12,85	10,78	11,90
1,5	9,72	8,14	7,83	7,47	10,61	16,96	9,52	15,10
2,0	10,31	10,78	9,48	9,43	10,88	15,49	13,69	6,64
2,5	7,50	14,77	8,89	7,87	9,16	12,13	15,51	6,21
5,0	8,38	9,58	9,60	9,89	9,58	14,56	10,31	6,06
10	10,50	5,76	7,91	8,42	4,42	15,21	7,33	8,77
15	10,27	2,37	6,88	6,54	2,39	11,77	2,32	6,82

Vertinant 7–9 benz[b]fenoksazin-6,11-dionų tirpalų (0,5–2 mg/l) poveikį miežių šaknų augimui matyti, kad didžiausiu aktyvumu pasižymėjo 1,5 mg/l koncentracijos 9 junginio tirpalas. Čia miežių šaknys užaugo atitinkamai 7,44 ir 1,86 cm ilgesnės nei sėklas sudrėkinus Vit. K3 ir S-14 tos pačios koncentracijos tirpalais. Padidinus tiriamų junginių koncentracijas (2,5–15 mg/l) nustatyta, kad ilgesnės miežių šaknys užaugo sėklas sudrėkinus 9 junginio 5 ir 10 mg/l koncentracijos tirpalais. Jos buvo atitinkamai 1,39 ir 2,04 cm ilgesnės, palyginus su kontroliniu bandiniu. S-14, 7 ir 8 junginių tirpalai, palyginus su kontroliniu bandiniu, miežių šaknų augimą slopino.

Tyrimai (2 pav.) parodė, kad iš visų tirtų junginių labiausiai miežių šaknų augimą skatino 9 junginio 1,5 mg/l koncentracijos tirpalas.

3 lentelėje pateikti duomenys apie susintetintų junginių poveikį miežių augalų biomasėi. Nustatyta, kad iš 1–3 β-alanino darinių tirpalų (koncentracija 0,5–2 mg/l) didžiausią įtaką biomasės prieaugiui turėjo 2 junginio 0,5 mg/l koncentracijos tirpalas. Dėl jo poveikio miežių biomasė buvo 0,046 g didesnė, palyginus su kontroliniu bandiniu. Sėklas sudrėkinus tokios pat koncentracijos S-14, 1 ir 3 junginių tirpalais, palyginus su kontroliniu bandiniu, miežių biomasė buvo mažesnė. Padidinus jungi-



2 pav. Miežių šaknų augimą skatinantys junginiai

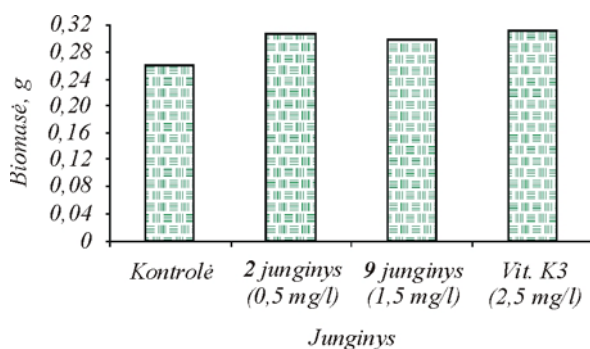
nių tirpalų koncentracijas nuo 2,5 iki 15 mg/l, didžiausia miežių biomasė gauta bandyme, kuriame sėklos buvo sudrėkintos Vit. K3 (2,5 mg/l) ir 2 junginio (10 mg/l) tirpalais. Dėl 2 junginio poveikio (2,5 ir 10 mg/l) miežių biomasė buvo atitinkamai 0,037 g ir 0,034 g didesnė, palyginus su kontroliniu bandiniu. Didžiausia biomasė, 0,052 g didesnė, palyginus su kontroliniu bandiniu, gauta bandyme, kuriame miežių sėklos buvo sudrėkintos 2 mg/l koncentracijos Vit. K3 tirpalu.

3 lentelė. 1, 2, 3, 7, 8, 9 junginių ir Vit. K3, S-14 tirpalų (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 10; 15 mg/l) įtaka miežių biomasėi

Koncentracija, mg/l	Biomasė, g, kai miežių sėklos apdorotos junginių tirpalais							
	1	2	3	7	8	9	Vit. K3	S-14
Kontrolė	0,260	0,260	0,260	0,260	0,260	0,260	0,260	0,260
0,5	0,182	0,306	0,185	0,234	0,157	0,270	0,281	0,216
1,0	0,218	0,209	0,186	0,219	0,183	0,277	0,272	0,215
1,5	0,234	0,235	0,200	0,193	0,228	0,297	0,244	0,241
2,0	0,224	0,272	0,205	0,242	0,190	0,279	0,301	0,184
2,5	0,173	0,297	0,169	0,169	0,190	0,274	0,312	0,156
5,0	0,183	0,260	0,191	0,203	0,240	0,308	0,268	0,154
10	0,225	0,294	0,205	0,261	0,184	0,294	0,312	0,193
15	0,248	0,226	0,264	0,235	0,144	0,271	0,225	0,206

Nustatyta, kad iš tirtų 7–9 benz[*b*]fenoksazin-6,11-dionų tirpalų (0,5–2,0 mg/l), 9 junginio visų koncentracijų tirpalai stimuliuo miežių biomasės didėjimą, o didžiausia biomasė gauta sėklas sudrėkinus 1,5 mg/l koncentracijos tirpalu. S-14, 7 ir 8 junginių tirpalai, palyginti su kontroliniu variantu, biomasės kiekio nepadidino. Padidinus 7–9 junginių tirpalų koncentracijas (2,5–15 mg/l) nustatyta, kad didžiausia vidutinė miežių biomasė užaugo bandyme, kuriame sėklos buvo sudrėkintos 2,5 ir 10 mg/l koncentracijų Vit. K3 tirpalais bei visų koncentracijų 9 junginio tirpalais, palyginus su kontroliniu bandiniu. Sėklas sudrėkinus 5,0 mg/l koncentracijos 9 junginio tirpalu miežių biomasė, palyginti su kontroliniu bandiniu, buvo 0,048 g didesnė.

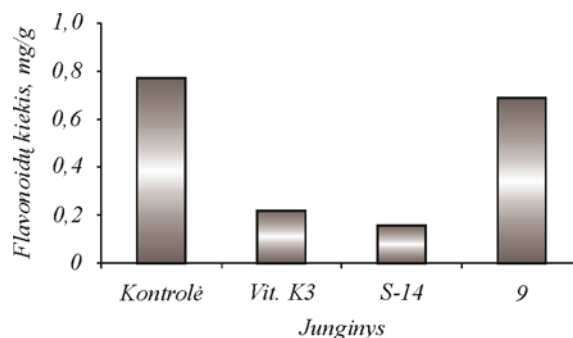
Apibendrinant gautus rezultatus (3 pav.) matyti, kad efektyviausiai miežių biomasę padidino 2 junginys (0,5 mg/l koncentracijos).



3 pav. Miežių biomasę didinantys junginiai

FLAVONOIDŲ KIEKIO ĮVERTINIMAS MIEŽIUOSE. Įvertinus biologinių tyrimų rezultatus flavonoidų kiekiui nustatyti buvo pasirinkti šie junginiai ir jų koncentracijos: Vit K3 (2,5 mg/l), 3-(2-okso-1,3-benzok-sazol-3(2H)-il)propano rūgšties natrio druska (1,5 mg/l) (S-14) ir 3-(6,11-diokso-6*H*-benz[*b*]fenoksazin-12(11*H*)-il)butano rūgštis (9) (1,5 mg/l). Miežiai drėkinti atrinktų junginių tirpalais, kontroliniame bandinyje – vandeniu, daiginti Petri lėkštelėse, sudžiovinti, išskirti flavonoidai, kurių kiekis nustatytas spektrofotometrinio metodu.

Tyrimo rezultatai parodė (4 pav.), kad daugiausia flavonoidų susidarė miežius daiginant vandenyje. Šiek tiek mažiau jų buvo miežiuose, daigintuose 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgšties (9) 1,5 mg/l koncentracijos tirpale, tačiau atitinkamai 3,1 ir 4,4 karto didesnis nei flavonoidų kiekis miežiuose, daigintuose žinomų augimo stimuliatorių Vit. K3 ir S-14 tirpaluose.



4 pav. Vit. K3, S-14 ir 9 junginio poveikis flavonoidų kiekiui miežiuose

Iš laboratorinio tyrimo metu gautų duomenų matyti, kad didžiausiu miežių augimą skatinančiu poveikiu tarp tirtų naujų junginių ir žinomų augalų augimo stimuliatorių pasižymi 3-(6,11-diokso-6*H*-benz[*b*]fenoksazin-12(11*H*)-il)butano rūgštis, kurią galima rekomenduoti tolesniems tyrimams lauko sąlygomis.

Išvados

1. Susintetinti N-(2-hidroksifenil)-β-alaninai, ištirta jų reakcija su 2,3-dichlor-naftochinonu dimetilsulfoksido, esant natrio karbonato, ir nustatyta, kad šiomis sąlygomis susidaro atitinkami N-pakeisti benz[*b*]fenoksazin-6,11-dionai.
2. Laboratorinėmis sąlygomis atlikus N-(2-hidroksifenil)-β-alaninų, N-pakeistų benz[*b*]fenoksazin-6,11-dionų biologinius tyrimus nustatyta, kad didžiausiu miežių augimą skatinančiu poveikiu pasižymėjo 3-

(6,11-diokso-6*H*-benz[*b*]fenoksazin-12(11*H*)-il)butano rūgštis.

3. Sudrėkinus sėklas šio junginio 1,5 mg/l koncentracijos tirpalu miežių daigai užaugo 2,61 cm (22 %) aukštesni, šaknys 3,79 cm (22 %) ilgesnės, biomasė padidėjo 0,037 g (16 %), palyginti su kontroliniu variantu. Iš tirtų β-alanino darinių geriausiu augimą skatinančiu poveikiu pasižymėjo N-(2-hidroksifenil)-α-metil-β-alaninas.
4. Nustatyta, kad miežių, kurių sėklos buvo sudrėkintos 3-(6,11-diokso-6*H*-benz[*b*]fenoksazin-12(11*H*)-il)butano rūgšties 1,5 mg/l koncentracijos tirpalu, džiovintoje vegetatyvinėje dalyje susidaręs flavonoidų kiekis buvo atitinkamai 4,4 ir 3,1 karto didesnis, palyginus su kiekiu flavonoidų, susidarančių tokia pat bandyme naudojant žinomą augalų augimo stimuliatorių – Stilitą-14 ir vitaminą K3.

Literatūra

1. Thomson R. H. Naturally Occurring Quinones. London, 1971.
2. Polonik S. G., Prokof'eva N. G., Agafonova I. G., Uvarova N. I. // Pharm. Chem. J. 2003. Vol. 37, N 8. P. 397.
3. Tandon V. K., Singh R. V., Vaish M., Chaturvedic A. K., Shukla P. K. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005. Vol. 15, N 14. P. 3463.
4. Ball M. D., Bartlett M. S., Shaw M., Smith J. W., Nasr M., Meshnick S. R. // Antimicrob. Agents Ch. 2001. Vol. 45, N 5. P. 1473.
5. Bezerra D. P., Alves A. P., de Alencar M. N., Mesquita R. O., Lima M. W., Pessoa C., de Moraes M. O., Lopes J. N., Lopes N. P., Costa-Lotufo L. V. // J. Exp. Ther. Oncology. 2008. Vol. 7, N 2. P. 113.
6. Brandelli A., Bizani D., Martinelli M. // Braz. J. Pharm. Sci. 2004. Vol. 40, N 2. P. 247–253.
7. Couladouros E. A., Plyta Z. F., Papageorgiou V. P. // J. Org. Chem. 1996. Vol. 61, N 9. P. 3031–3033.
8. Slater A., Scott N., Fowler M. Plant biotechnology. The Genetic Manipulation of Plants. Oxford, 2003.
9. Brokaitė K., Mickevičius V., Jakienė E. // Cheminė technologija. 2006. Nr. 3 (41). P. 65–73.
10. Jonuškienė I., Kuusienė S., Mickevičius V. // Cheminė technologija. 2008. Nr. 3–4 (49). P. 53–56.
11. Jakienė E., Venskutonis V., Mickevičius V. // Žemdirbystė = Agriculture / Lietuvos žemdirbystės institutas, Lietuvos žemės ūkio universitetas. 2007. T. 94, Nr. 2. P. 3–17.
12. Paulíčkova I., Ehrenbergerova J. // Czech J. Food Sci. 2006. Vol. 25, N 2. P. 65–72.
13. Lee S. H., Jew S. S., Chang P. S. // Food Sci. Biotechnol. 2003. Vol. 12. P. 268–273.
14. Mickevičius V. N-Aril-β-alaninai, jų ciklizacija ir gautų produktų savybės (daktaro disertacija). Kaunas, 1997.
15. Jakienė E., Mickevičius V., Beresnevičius Z. // Žemdirbystė. 2001. N 75. P. 65–71.
16. Bűrün B., Çoban Poyrazoglu E. // Turk. J. Biol. 2002. Vol. 26, N 3. P. 175–180.
17. Snow A. M., Ghaly A. E. // Am. J. Nevrom. Sci. 2008. Vol. 4, N 2. P. 89–102.
18. Daunoras G. Farmakopėjos straipsnių rinkinys. Kaunas, 2001.

Tyrimą rėmė: Lietuvos mokslo taryba, projektas TAP-53/2010.

R. Stankevičienė, I. Jonuškienė, R. Baranauskaitė, V. Mickevičius

THE INFLUENCE OF N-(2-HYDROXYPHENYL)-β-ALANINES AND PRODUCTS OF THEIR INTERACTION WITH 2,3-DICHLOR-1,4-NAPHTHOQUINONE ON BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.) GROWTH AND FLAVONOIDS FORMATION

Summary

Naphthoquinones are largely found in plants, microorganisms, and some animals. These compounds have been widely used for various purposes as colorants for cosmetics, fabrics, foods, and for medicinal purposes, including antitumor, anti-inflammatory, and antimicrobial agents. They are biologically active.

Barley (*Hordeum vulgare* L.) is one of the oldest corn varieties in the world. Barley is widely used in the production of beer and in confectionery, textile, pharmacy industries. Barley seedlings contain significant quantities of calcium, iron, magnesium, potassium, vitamins C and E, flavonoids. However, the nutrient contents of all barley varieties depend on where the plants are grown, the soil quality, the average rainfall, and the harvest technique. It is known that the highest concentrations of nutrients are present for just a few days. Barley is promoted as a source of antioxidants. Studies have shown that an extract from young barley leaves helps to suppress a number of health disorders.

The barley variety 'Barke' was used in the experiments. Growth regulators were examined at different concentration: 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l, 2.5 mg/l, 5.0 mg/l, 10 mg/l and 15 mg/l. The naphthoquinone derivatives were synthesized at the Department of Organic Chemistry. The results of the experiments were compared with control variants: sterile distilled water, growth regulator 3-(2-oxo-1,3-benzoxazol-3(2*H*)-yl) propanoic acid sodium salt and 2-methyl-1,4-naphthoquinone (vitamin K3). Young green parts of barley plants, as a potential source of nutritionally valuable substances, were analysed for the content of flavonoids.

3-(6,11-Dioxo-6*H*-benz[*b*]phenoxazin-12(11*H*)-yl)butanoic acid was found to stimulate the growth of barley at a concentration of 1.5 mg/l. A solution of this compound (1.5 mg/l) also increased the content of flavonoids. The results of this study provide information that can help in the utilisation of barley seedlings as a unique and fully natural source of valuable nutritional substances – flavonoids.

DOI: 10.5755/j01.ct.56.3-4.16411