

## ***N*-Pakeistų $\beta$ -alaninų su naftochinono ir tiazolo fragmentais poveikio paprastosios jonažolės augimui *in vitro* ir metabolitų kaupimui tyrimas**

**V. Blėkaitytė, I. Jonuškienė, V. Mickevičius**

*Kauno technologijos universitetas,  
Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva  
El. paštas: v.blekaityte@gmail.com*

**crossref** <http://dx.doi.org/10.5755/j01.ct.62.4.3409>

*Gauta 2012 m. gruodžio 17 d.; priimta spaudai 2012 m. gruodžio 31 d.*

Įvertinus trijų žinomų augimo stimuliatorių (3-indolilacto rūgšties, *N*-fenil-*N*-tiokarbamoil- $\beta$ -alanino ir 2-metil-1,4-naftochinono) ir penkių tiriamųjų *N*-pakeistų  $\beta$ -alaninų poveikį laboratorinės atrankos metodu daiginant jonažolės (*Hypericum perforatum* L.) sėklas, nustatyta, kad tarp visų tirtų junginių aukščiausi ir didžiausios masės jonažolės ūgliukai užauga naudojant *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alanino (1 mg/l) ir *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alanino (1 mg/l) tirpalus. Rasta, kad *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninas iki 8 auginimo savaitės labiausiai padidina pigmentų kiekį jonažolės daigeliuose, o *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas skatina daigelių fotosintezę praėjus ilgam vegetacijos laikotarpiui (8–9 savaitėms). Bendrą fenolinių junginių ir taninų kiekį jonažolės daigeliuose labiausiai padidina *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas.

### **Įvadas**

Vaistiniai augalai – vienas svarbiausių vaistinių medžiagų šaltinių. Dėl savo ląstelėse kaupiamų antrinių metabolitų jie naudojami ne tik liaudies medicinoje. Apie ketvirtis sintetinių vaistų savo sudėtyje turi vaistažolių ekstraktų [1]. Didėjant vaistažolių poreikiams, natūraliai gamtoje augančių vaistažolių surinkamų kiekių buvo mažai, todėl jos pradėtos augininti plantacijomis. Tačiau to nepakanka, nes tokiu būdu auginant jonažolę išskyla sunkumų, pavyzdžiui, dėl grybelinės šaknų puvinio ligos antraknozės, kurią sukelia *Colletotrichum gloeosporioides* (CG), gerokai sumažėjo derlius ir pakito vaistažolės ekstraktų cheminė sudėtis. Be to, nustatyta, kad antrinių metabolitų kiekis priklauso nuo šviesos intensyvumo, azoto kiekio ore, temperatūros, auginimo sezono ir regiono, kuriame augalas auginamas. Todėl ieškoma būdų, kaip padidinti jonažolės atsparumą ligoms ir užauginamos vaistažolės kiekius [2].

Kadangi siekiama gauti populiacijas, gaminančias maksimalius ir nekintančius antrinių metabolitų kiekius, ypač reikšminga tapo *in vitro* auginama kultūra.

Paprastoji jonažolė (*Hypericum perforatum* L.) – jonažolinių (*Hypericaceae*) šeimos, jonažolių (*Hypericum*) genties daugiametis, 30–100 cm aukščio žolinis augalas, augantis vakarinėje Amerikos dalyje, Europoje ir Azijoje. Jos antžeminėje dalyje yra ksantonų, 0,5–1,0 % flavonoidų: hiperozido, rutino, kvercetino, 0,1–0,3 % naftodiantronų (iš kurių 80–90 % yra hipericino ir pseudohipericino), taip pat dažinių, 3,8–10 % rauginių medžiagų, vitaminų C, E, P, glikozidų, redukuotų cukrų, karotinoidų, 0,05–1,25 % eterinio aliejaus, 0,3 % alkaloidų, steroidų, 0,01 % kavos rūgšties, kumarinų, antrachinonų, monoterpenų, mineralinių medžiagų, antocianų, antocianidinų ir hiperforino.

Daugiausia farmakologijos dėmesio skiriama hipericinui ir hiperforinui, nes jie kartu su kitais flavonoidais, lemia antidepresantinį jonažolės poveikį [3].

$\beta$ -Aminorūgščių fragmentus turintys junginiai labai svarbūs farmacijoje. Vieni iš tokių junginių – bakterijose ir grybuose aptinkami antibiotikai. Dėl sugebėjimo sąveikauti su molekulėmis-taikiniais,  $\beta$ -aminorūgščių dariniai tyrinėjami kaip vaistai nuo vėžinių susirgimų. Pavyzdžiui, augaluose sintetinas taksolis ir jo dariniai – potencialūs vaistai žmogaus vėžinėms ląstelėms išnykti [4].

Naftochinonai – naftaleno junginiai, gaunami pakeičiant du vandenilio atomus keto grupėmis. Gamtoje naftochinonai (1,4-dioksonaftalenai) sintetinami augalų lapuose, sėklose ir sumedėjusioje dalyje, taip pat aptinkami kai kuriose bakterijose ir kai kuriuose gyvūnuose. Tai organiniuose tirpikliuose tirpūs, vandenyje blogai tirpstantys organiniai junginiai. Išgryninti naftochinonai yra geltoni, oranžiniai, raudoni ir purpuriniai kristalai, kurie dėl spalvų gamos praktikoje naudojami kaip kosmetikos, maisto produktų ir audinių dažai [5]. Citotoksiški augalų ir mikroorganizmų naftochinonai naudojami medicinoje kaip vaistai nuo pirmuonių, grybelių ir bakterijų sukiamų ligų, taip pat kaip vaistai, gydantys navikus [6]. Terapiniams tikslams kuriami ir sintetiniai naftochinonų analogai. Naftochinonų dariniai (pvz., vitaminas K3) biotechnologijoje naudojami kaip augimo stimuliatoriai. Mokslininkų atlikti tyrimai įrodo, kad šis junginys turi augimo stimuliatorių auksinų savybių [7].

Darbo tikslas – ištirti *N*-pakeistų  $\beta$ -alaninų su naftochinono ir tiazolo fragmentais poveikį jonažolei (*Hypericum perforatum* L.) *in vitro*, siekiant padidinti jos biomasę ir metabolitų kiekį joje.

## Tiriamoji medžiaga ir tyrimo metodai

Tyrimai atlikti Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Organinės chemijos katedros Organinės chemijos ir Biotechnologijos laboratorijose. Tiriamoji medžiaga – paprastoji jonažolė (*Hypericum perforatum* L.), išauginta *in vitro* iš sėklų. Tyrimams naudoti trys žinomi augimo reguliatoriai ir penki Organinės chemijos katedroje susintetinti tiriamieji junginiai (1 ir 2 lent.). Junginiai **1**, **2** susintetinti pagal literatūros šaltinyje [8], junginys **4** – pagal literatūros šaltinyje [9], o junginiai **3**, **5** – pagal literatūros šaltinyje [10] aprašytas metodikas.

Atliekant tyrimą paprastosios jonažolės (*Hypericum perforatum* L.) sėklos sterilizuojamos pamerkiant jas 5 s į 70 % etanolį, po to 20 min mirkant 1,5 % natrio hipochlorito tirpale ir 3 kartus plaunant steriliu distiliuotu vandeniu. Darbas atliekamas aseptinėmis sąlygomis laminare TELSTAR BV-100. (Laminaras dezinfekuojamas 15 min švitinant ultravioletiniais spinduliais bei valant 70 % etanoliumi.)

Sėklos daiginamos steriliu filtriniu popieriumi išklotose stiklinėse *Petri* lėkštelėse, jas užpilant 2 ml 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 ir 5 mg/l koncentracijų tiriamųjų junginių tirpalais. Kontroliniame bandinyje naudotas distiliuotas vanduo. Lėkštelės 3 dienas laikomos tamsoje, pastovioje 25 °C temperatūroje, po to 25 dienas šviesoje, kambario temperatūroje. Bandymas kartojamas tris kartus. Pasibaigus ekspozicijos trukmei, matuojamas

daigelių aukštis, šaknų ilgis, įvertinamas sėklų daigumas bei daigelių biomasė. Svarbiausias kriterijus, parenkant junginių koncentracijas, yra daigelių aukštis, tačiau atsižvelgiama ir į kitus išmatuotus dydžius.

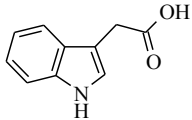
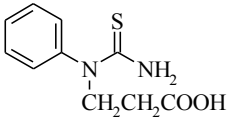
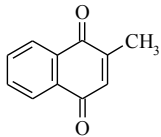
Jonažolės daigeliai auginami *in vitro* vaistažolės sėklas sudedant į plastikines *Petri* lėkšteles, kuriose yra po 25 ml *Murashige-Skoog* (MS) terpės, papildytos parinktų koncentracijų tiriamųjų junginių tirpalais. Kultivuojama mėnesį, visą parą apšviestoje aplinkoje, esant 20–22 °C temperatūrai. MS terpė paruošta pagal metodiką, pateiktą literatūroje [11]. Chlorofilas *a* ir *b* bei karotinoidai nustatyti taikant kiekybinį spektrofotometrinių metodą, o fenolinių junginių kiekiui nustatyti taikomas Folino-Kiokalto metodas [12].

## Rezultatai ir jų aptarimas

**Žinomų augimo stimuliatorių ir tiriamųjų junginių poveikis jonažolės daigelių augimui *in vitro*.** Siekiant nustatyti šių junginių poveikį jonažolės augimui, vaistažolės sėklos daiginamos, o po 28 dienų matuojamas daigelių aukštis, šaknų ilgis ir daigelių biomasė (1, 2 lent.).

Įvertinus tyrimo rezultatus (1 lent.), tolesniems tyrimams pasirinkta 2 mg/l 3-indolilacto rūgšties koncentracija, kuriai esant vidutinis ūgliukų aukštis siekia 16 mm. Nors drėkinant sėklas 2,5 mg/l koncentracijos IAR tirpalais ūgliukų aukštis ir daigelių masė šiek tiek didesnė, tačiau tokiu atveju vaistažolės šaknys yra labai silpnos.

**1 lentelė.** Žinomų augimo stimuliatorių poveikis jonažolės daigelių augimui *in vitro*

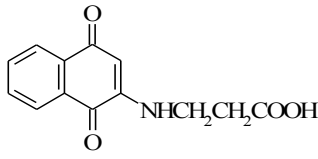
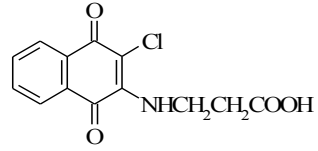
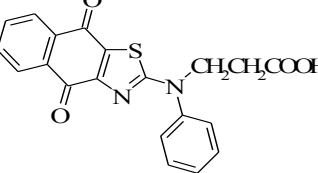
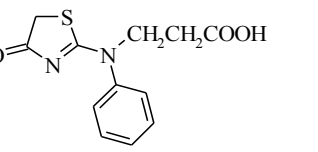
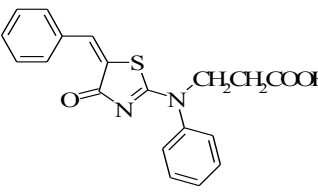
Jonažolei daiginti naudotas junginys ir jo koncentracija, mg/l		Daigelių aukštis		Šaknų ilgis		Daigelių biomasė		
		mm	skirtumas, gautas palyginus su k.v.*, mm	mm	skirtumas, gautas palyginus su k.v.*, mm	mg	skirtumas, gautas palyginus su k.v.*, mg	
IAR (3-Indolilacto rūgštis)		0,25	10,00	-2,13	31,47	18,14	0,593	-0,852
		0,5	15,38	3,26	15,00	1,67	0,888	-0,558
		1	12,29	0,16	25,71	12,38	1,029	-0,417
		1,5	11,35	-0,78	6,35	-6,98	1,153	-0,293
		2	15,58	3,46	16,37	3,04	1,321	-0,125
		2,5	16,63	4,51	12,31	-1,02	1,431	-0,015
		5	13,13	1,01	13,81	0,48	1,275	-0,171
FTBA (N-Fenil-N-tiokarbamoil-β-alaninas)		0,25	9,00	-3,13	3,18	-10,15	1,059	-0,387
		0,5	7,18	-4,95	5,73	-7,60	0,941	-0,505
		1	7,50	-4,63	7,06	-6,27	0,939	-0,507
		1,5	7,43	-4,70	5,38	-7,95	1,319	-0,127
		2	10,94	-1,19	12,33	-1,00	1,911	0,465
		2,5	9,89	-2,24	25,68	12,35	1,589	0,144
Vit. K3 (2-Metil-1,4-naftochinonas)		0,25	16,48	4,36	21,08	7,75	1,112	-0,334
		0,5	12,69	0,57	26,50	13,17	1,285	-0,161
		1	16,24	4,12	9,60	-3,73	1,476	0,030
		1,5	14,29	2,17	11,04	-2,29	0,764	-0,682
		2	14,65	2,53	8,00	-5,33	0,715	-0,730
		2,5	15,54	3,42	6,58	-6,75	1,288	-0,158
*Kontrolinis variantas (vanduo)		12,13	-	13,33	-	1,446	-	

*N*-Fenil-*N*-tiokarbamoil- $\beta$ -alanino koncentracijos, kurioms esant jonažolės ūgliukai auga geriausiai, yra 2 mg/l ir 2,5 mg/l, tačiau tolesniems tyrimams atlikti pasirinkta 2,5 mg/l junginio FTBA koncentracija. Šiuo atveju daigeliai užauga iki 10 mm aukščio ir susiformuoja stipri šaknų sistema. Naudojant parinktos junginio FTBA koncentracijos tirpalą, daigelių šaknų ilgis ir masė viršija kontrolinio varianto dydžius. Remiantis tyrimų rezultatais, nuspręsta, kad tolesniems tyrimams atlikti

tinkamiausia 0,25 mg/l 2-metil-1,4-naftochinono koncentracija. Jai esant jonažolės daigeliai išauga aukščiausi ir pasiekia 16 mm. Be to, naudojant 0,25 mg/l koncentracijos vit. K3 tirpalą, daigelių aukštis ir šaknų ilgis gaunami didesni nei kontroliniu atveju.

*N*-Pakeistų  $\beta$ -alaninų poveikio jonažolės augimui tyrimų duomenys pateikti 2 lentelėje.

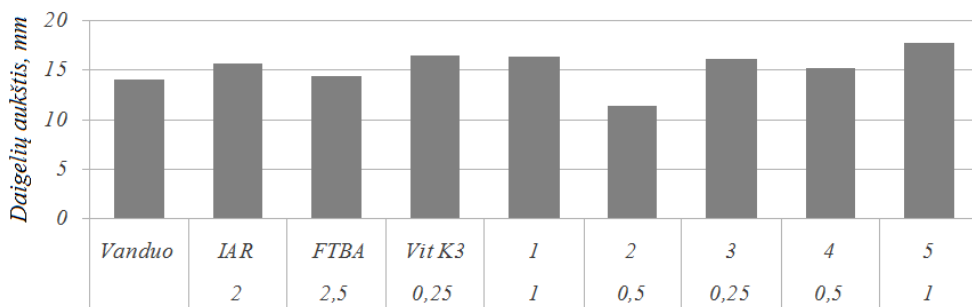
**2 lentelė.** Tiriamųjų junginių poveikis jonažolės daigelių augimui *in vitro*

Jonažolei daiginti naudotas junginys ir jo koncentracija, mg/l		Daigelių aukštis		Šaknų ilgis		Daigelių biomasė		
		mm	skirtumas, gautas palyginus su k.v.*, mm	mm	skirtumas, gautas palyginus su k.v.*, mm	mg	skirtumas, gautas palyginus su k.v.*, mg	
1	 <i>N</i> -(1,4-Naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninas)	0,25	14,44	2,32	14,70	1,37	0,956	-0,490
		0,5	13,44	1,32	18,33	5,00	1,370	-0,075
		1	13,81	1,69	21,67	8,34	1,037	-0,409
		1,5	13,04	0,91	10,32	-3,01	1,532	0,086
		2	12,22	0,10	8,81	-4,52	1,730	0,284
		2,5	13,07	0,95	6,39	-6,94	1,346	-0,099
		5	10,10	-2,03	4,05	-9,28	1,667	0,221
2	 <i>N</i> -(3-Chlor-1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninas)	0,25	7,35	-4,78	25,12	11,79	0,800	-0,646
		0,5	11,09	-1,04	30,83	17,50	1,187	-0,259
		1	12,48	0,36	12,39	-0,94	1,587	0,141
		1,5	6,92	-5,21	22,63	9,30	2,008	0,562
		2	7,06	-5,07	13,88	0,55	2,050	0,604
		2,5	9,83	-2,30	5,38	-7,95	1,163	-0,283
		5	8,00	-4,13	2,60	-10,73	1,612	0,166
3	 <i>N</i> -Fenil- <i>N</i> -(4,9-dihidro-4,9-dioks-nafto[2,3-d]tiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas)	0,25	17,09	4,97	8,41	-4,92	0,823	-0,623
		0,5	16,32	4,20	8,08	-5,25	0,944	-0,502
		1	17,09	4,97	7,32	-6,01	1,159	-0,287
		1,5	15,89	3,77	6,85	-6,48	1,259	-0,187
		2	15,92	3,80	7,58	-5,75	1,538	0,093
		2,5	15,07	2,95	5,29	-8,04	1,346	-0,099
		5	15,59	3,47	3,05	-10,28	1,700	0,254
4	 <i>N</i> -Fenil- <i>N</i> -(4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas)	0,25	10,64	-1,49	30,24	16,91	1,524	0,078
		0,5	15,50	3,38	14,27	0,94	1,532	0,086
		1	16,04	3,92	8,39	-4,94	1,209	-0,237
		1,5	14,21	2,09	7,33	-6,00	1,533	0,088
		2	13,19	1,07	5,96	-7,37	1,207	-0,238
		2,5	13,19	1,07	5,08	-8,25	1,262	-0,184
		5	9,71	-2,42	2,81	-10,52	1,286	-0,160
5	 <i>N</i> -Fenil- <i>N</i> -(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas)	0,25	12,69	0,57	22,35	9,02	1,188	-0,257
		0,5	13,71	1,59	10,04	-3,29	1,358	-0,087
		1	13,39	1,27	11,87	-1,46	1,817	0,372
		1,5	11,82	-0,31	5,88	-7,45	1,453	0,007
		2	13,52	1,40	6,00	-7,33	1,671	0,226
		2,5	13,78	1,66	4,48	-8,85	1,485	0,039
		5	11,35	-0,78	2,31	-11,02	1,492	0,047
*Kontrolinis variantas (vanduo)		12,13	-	13,33	-	1,446	-	

Įvertinus gautus rezultatus (2 lent.), tolesniems tyrimams parinkta 1 mg/l *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alanino koncentracija, kuriai esant daigeliai užauga iki 14 mm aukščio ir viršija daigelių, užaugusių sėklas drėkinant vandeniu, aukštį. Nors naudojant 1 mg/l koncentracijos junginio 1 tirpalą, išaugusių daigelių masė mažesnė nei daigelių, augusių nenaudojant sintetinių junginių, tačiau ūgliukai išleidžia tvirtas šaknis. Vertinant 2 junginio poveikį, matyti, kad aukščiausi ūgliukai užauga jonažolės sėkloms daiginti naudojant 1 mg/l koncentracijos *N*-(3-chlor-1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alanino tirpalą, tačiau tuomet ūgliukai suformuoja labai silpnas šaknis, todėl tolesniems tyrimams pasirinkta 0,5 mg/l koncentracija. Naudojant parinktos koncentracijos tiriamojo junginio tirpalą, jonažolės ūgliukai užauga vidutiniškai iki 11 mm aukščio ir užaugina ilgas, tvirtas šaknis. Naudojant *N*-fenil-*N*-(4,9-dihidro-4,9-dioksnafto[2,3-d]tiazol-2-il)- $\beta$ -alanino tirpalus, didžiausi (17 mm) daigeliai užauga esant 0,25 mg/l ir 1 mg/l koncentracijoms, tačiau tolesniems tyrimams pasirinkta 0,25 mg/l junginio 3 koncentracija, kuriai esant gaunamos ilgesnės šaknys, siekiančios 8 mm. Iš tyrimų rezultatų

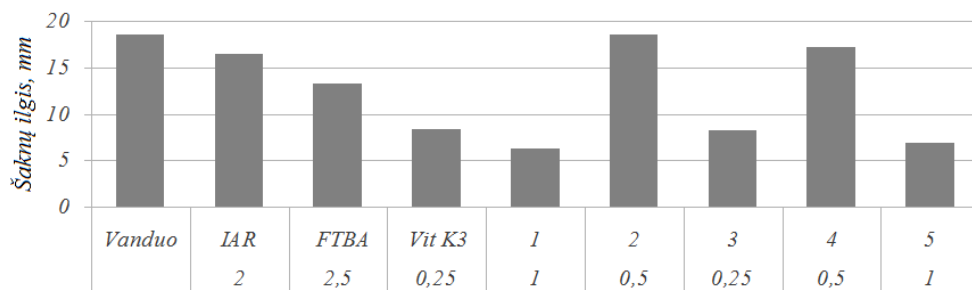
matyti, kad junginio 4 koncentracija, tinkamiausia jonažolės daigeliams auginti, yra 0,5 mg/l. Naudojant pasirinktos koncentracijos *N*-fenil-*N*-(4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alanino tirpalą, daigeliai užauga gana aukšti (15 mm) ir išaugina palyginti ilgas 14 mm ilgio šaknis. Įvertinus junginio 5 poveikį jonažolės augimui, tolesniems tyrimams parinkta 1 mg/l junginio 5 koncentracija, kuriai esant jonažolės daigeliai užauga iki 14 mm aukščio.

**Tiriamųjų junginių poveikio jonažolei palyginimas.** Siekiant surasti junginius, darančius didžiausią teigiamą poveikį jonažolės daigelių augimui, buvo lyginamas ankstesnių matavimų metu parinktų tiriamųjų junginių koncentracijų tirpalų poveikis jonažolės daigelių augimui. Kad būtų išvengta paklaidų, atsirandančių dėl aplinkos poveikio skirtumų daiginant sėklas, bandymas buvo kartojamas sėklas drėkinant atrinktų koncentracijų tiriamųjų junginių tirpalais ir po 28 dienų įvertintas jų poveikis daigelių aukščiui, šaknų ilgiui, daigumui ir daigelių masei (1 pav.).



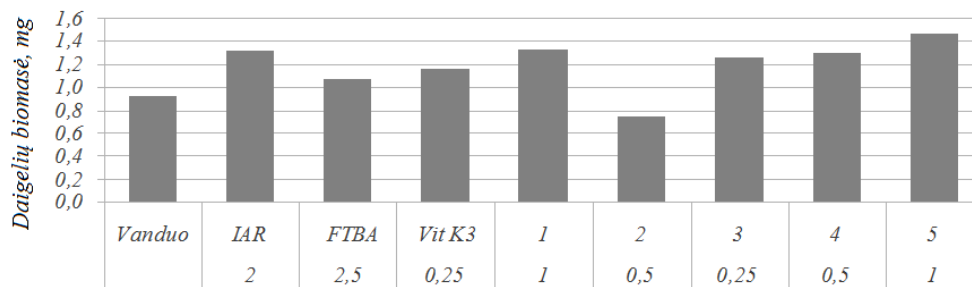
Tiriamieji junginiai ir jų koncentracijos, mg/l

(a)



Tiriamieji junginiai ir jų koncentracijos, mg/l

(b)



Tiriamieji junginiai ir jų koncentracijos, mg/l

(c)

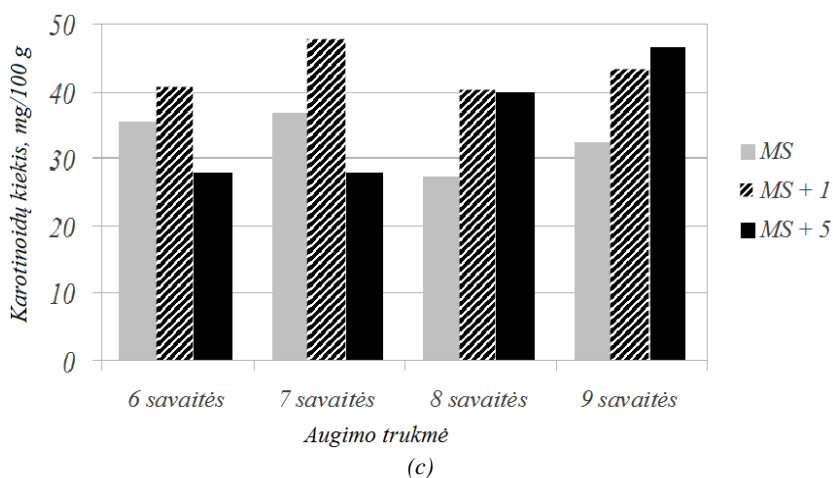
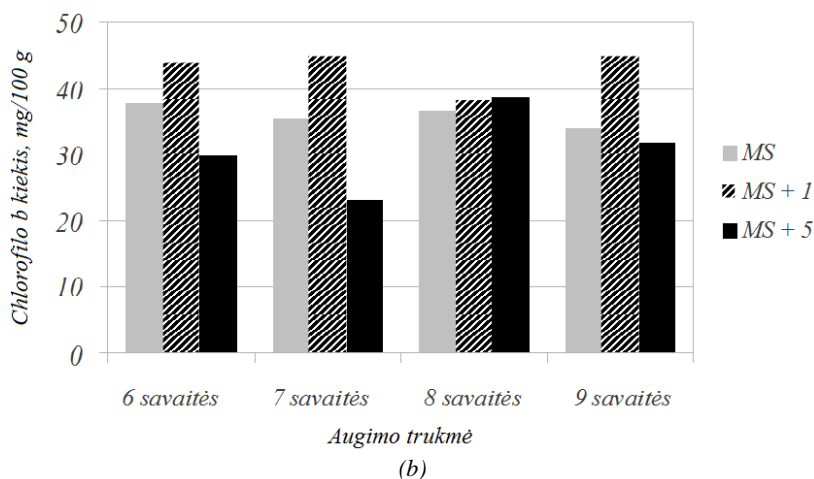
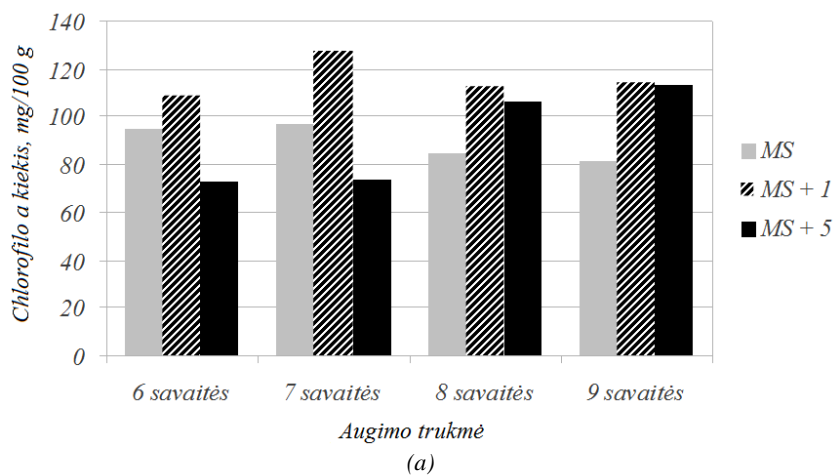
**1 pav.** Žinomų augimo stimuliatorių ir tiriamųjų junginių poveikio jonažolės daigelių aukščiui (a), šaknų ilgiui (b) ir daigelių biomasei (c) palyginimas

Apibendrinus tyrimų rezultatus, matyti, kad didžiausią teigiamą poveikį jonažolės daigelių augimui turi junginio **1** ir junginio **5** (1 mg/l) koncentracijos tirpalai. Juos naudojant, jonažolės daigeliai išauga didžiausio aukščio ir masės, pralenkdami ūgliukus, išaugusius jonažolės sėklas veikiant žinomu augimo stimulatoriumi – 3-indolilacto rūgštimi. Tačiau šie junginiai slopina jonažolės šaknų augimą.

Nustačius, kad didžiausią teigiamą poveikį jonažolės daigelių augimui turi *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alanino (**1**) ir *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-

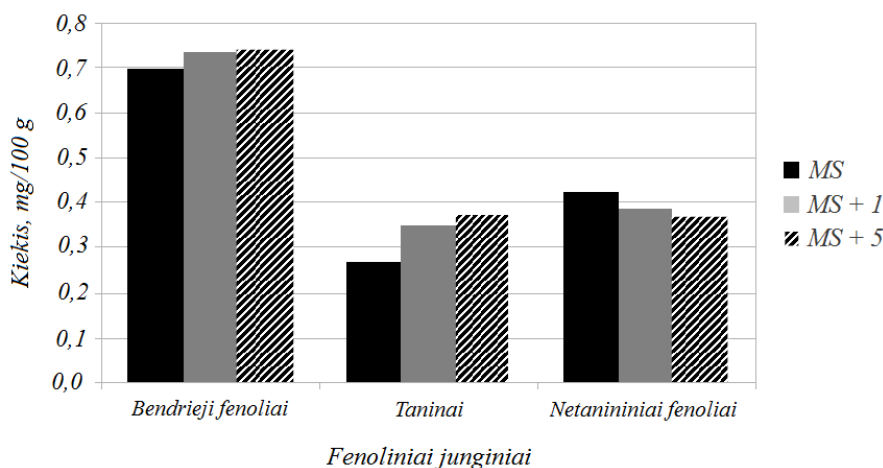
il)- $\beta$ -alanino (**5**) 1 mg/l koncentracijos tirpalai, jie buvo naudojami tyrimuose, siekiant nustatyti šių junginių įtaką pirminių ir antrinių metabolitų kaupimui jonažolės daigeliuose.

**Tiriamųjų junginių poveikis pigmentų kiekiui jonažolėje.** Pigmentų kiekiui nustatyti buvo naudojami jonažolės daigeliai, auginti ant MS + **1** (1 mg/l) ir MS + **5** (1 mg/l) terpių 6, 7, 8 ir 9 savaites. Kontroliniu bandiniu naudoti daigeliai, auginti ant MS terpės atitinkamą laikotarpį. Gauti tyrimo rezultatai pateikti 2 paveikslė.

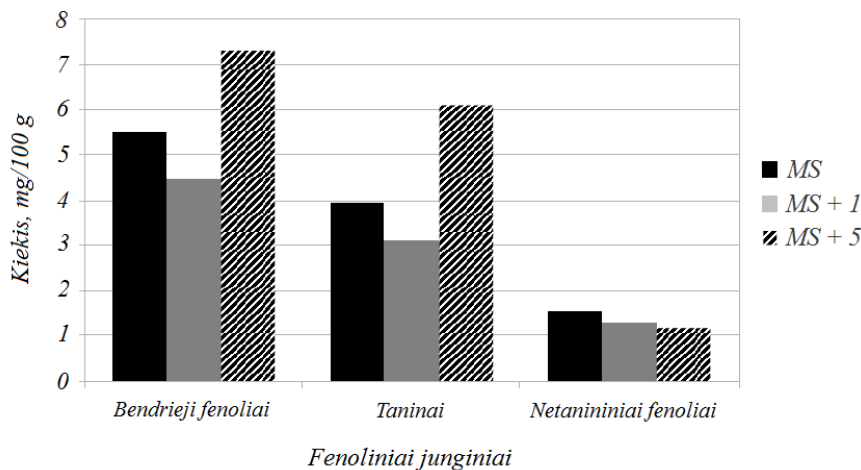


**2 pav.** Chlorofilo *a* (a), chlorofilo *b* (b) ir karotinoidų (c) kiekiai, gauti jonažolės daigelius kultivuojant terpėse, papildytose *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninu (**1**) ir *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninu (**5**)

Kaip matyti iš duomenų, pateiktų 2 pav., pigmentų kiekius jonažolės daigeliuose labiausiai padidina junginys **1**. Ant MS terpės užaugusiuose daigeliuose pigmentų kiekis nuo 8 auginimo savaitės pradeda mažėti. Daigeliuose, augintuose ant terpės, papildytos junginiu **1** (1 mg/l) didžiausias pigmentų kiekis pasiekiamas 7 augimo savaitę, o po to ima mažėti. Ūgliukuose, augintuose ant terpės, papildytos junginiu **5**, iki 7 savaitės pigmentų kiekis buvo mažiausias ir net mažesnis nei kontroliniame bandinyje. Tačiau ilgainiui pigmentų kiekis nuolat didėja ir nuo 8 augimo savaitės viršija pigmentų kiekį kontroliniame bandinyje.



**3 pav.** Fenolinių junginių kiekis žaliuose jonažolės daigeliuose, augintuose ant terpės, papildytos *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninu (**1**) ir *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninu (**5**)



**4 pav.** Fenolinių junginių kiekis sausuose jonažolės daigeliuose, augintuose ant terpės, papildytos *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninu (**1**) ir *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninu (**5**)

Atlikus džiovintų jonažolės daigelių tyrimus (4 pav.), nustatyta, kad sausuose daigeliuose sukaupiami didžiausi fenolinių junginių ir taninų kiekiai, daigelius auginant ant terpės, papildytos junginiu **5** (1 mg/l). Tačiau netanininių fenolių kiekis dėl šio junginio mažėja. Junginys **1** sumažina visų tirtų antrinių metabolitų kiekius sausuose jonažolės daigeliuose.

**Tiriamųjų junginių poveikis bendrųjų fenolinių junginių kaupimui jonažolėje.** Bendrųjų fenolinių junginių kiekiui nustatyti buvo naudojami jonažolės daigeliai, užauginti ant MS + **1** (1 mg/l) ir MS + **5** (1 mg/l) terpių.

Iš tyrimų rezultatų (3 pav.) matyti, kad dėl abiejų tiriamųjų junginių padidėja bendrųjų fenolinių junginių ir taninų kiekiai žaliuose jonažolės daigeliuose. Tačiau netanininių fenolių kiekiai daigeliuose, augintuose ant terpės, kurios sudėtyje yra tiriamųjų junginių, sumažėja.

## Išvados

- Įvertinus *N*-pakeistų  $\beta$ -alanino junginių poveikį laboratorinės atrankos metodu daiginant jonažolės (*Hypericum perforatum* L.) sėklas, nustatyta, kad aukščiausi ir didžiausios masės jonažolės ūgliukai užauga naudojant *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alanino (**1**) (1 mg/l) ir *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alanino (**5**) (1 mg/l) tirpalus. Nors šie junginiai slopina šaknų augimą, tačiau daigelių

- augimą jie veikia efektyviau nei žinomi augimo stimulatoriai.
- Nustatyta, kad *N*-(1,4-naftochinon-2-il)- $\beta$ -alaninas (**1**) iki 8 auginimo savaitės labiausiai padidina pigmentų kiekį jonažolės daigeliuose, o *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas (**5**) skatina daigelių fotosintezę praėjus ilgam vegetacijos laikotarpiui (8–9 savaitėms).
  - Bendrą fenolinių junginių kiekį ir taninų kiekį jonažolės daigeliuose labiausiai padidina *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas (**5**). Žaliuose daigeliuose bendras fenolinių junginių kiekis padidėja 6 %, o taninų – 38 %, sausuose – atitinkamai 33 % ir 55 %.
  - Atsižvelgiant į gautus rezultatus, galima teigti, kad geriausiai augimą skatina *N*-fenil-*N*-(5-benziliden-4,5-dihidro-4-oksotiazol-2-il)- $\beta$ -alaninas (**5**), kuris jonažolės daigelių augimą skatina efektyviau nei tirti žinomi augimo stimulatoriai. Be to, jis skatina metabolitų kaupimą vaistažolėje, todėl galima jį rekomenduoti tolesniems tyrimams.

## Literatūra

- Tripathi L., Tripathi J. N.** Role of Biotechnology in Medicinal Plants. // Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2003. Vol. 2. N 2. P. 243–253.
- Conecicao L. F. R., Ferreres F., Tavares R. M., Dias A. C. P.** Induction of Phenolic Compounds in *Hypericum perforatum* L. Cells by *Colletotrichum gloeosporioides* Elicitation. // Phytochemistry. 2006. Vol. 2. N 67. P. 149–155.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.10.017>
- Podlech D.** Herbs and Healing Plants of Britain and Europe. New York. 2007.
- Juaristi E., Soloshonok V.** Enantioselective Synthesis of  $\beta$ -amino Acids. New Jersey. 2005.
- Katritzky A. N., Fan W.** Some Novel Quinone-Type Dyes Containing Naphthoquinone and Related Fused Ring Systems // Journal of Heterocyclic Chemistry. 1988. Vol. 25. N 25. P. 901–906.  
<http://dx.doi.org/10.1002/jhet.5570250338>
- Brandelli A., Bizanil D., Martinelli M., Stefani V., Gerbase A. E.** Antimicrobial Activity of 1,4-Naphthoquinones by Metal Complexation // Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2004. Vol. 40. N 2. P. 247–253.
- Christov C., Koleva A.** Stimulation of Root Initiation in Hardwood Sweet and Sour Cherry Rootstocks (*Prunus mahaleb* L.) // Bulgarian Journal of Plant Physiology. 1995. Vol. 21. N. 1. P. 68–72.
- Bittner S., Gorohovsky S., Paz-Tal O., Becker J. Y.** Synthesis, Electrochemical and Spectral Properties of Some  $\omega$ -N-quinonyl Amino Acids. // Amino acids. 2002. Vol. 22. N 2. P. 71–93.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s726-002-8202-3>
- Stasevych M., Lubenets, V., Musyanovych, R., Novikov V., Mickevičius V., Beresnevičius Z., Rutkauskas K.** Novel Thiazolone Derivatives of *N*-aryl- $\beta$ -alanines // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2011. Vol. 47. N 8. P. 1050–1052.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10593-011-0874-1>
- Martinkutė G., Mickevičius V.** *N*-Fenil-*N*-(4,5-dihidro-4-okso-2-tiazolil)- $\beta$ -alaninų ir jų darinių sintezė // Chemija ir cheminė technologija. Studentų mokslinės konferencijos pranešimų medžiaga. Klaipėdos universitetas. Klaipėda, 2012. P. 117–119.
- Slater A., Scott N., Fowler M.** Plant Biotechnology. The Genetic Manipulation of Plants. Oxford. 2003.
- Makkar H. P. S., Siddhuraju P.** Plant Secondary Metabolites. New Jersey, 2007. 130 p.  
<http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-425-4>

V. Blėkaitytė, I. Jonuškienė, V. Mickevičius

## THE INFLUENCE OF *N*-SUBSTITUTED $\beta$ -ALANINES CONTAINING NAPHTHOQUINONE AND THIAZOLE MOIETIES ON THE GROWTH OF ST. JOHN'S WORT (*HYPERICUM PERFORATUM* L.) AND ITS ABILITY TO ACCUMULATE METABOLITES

### Summary

In recent years, the growing interest in medicinal plants and their products led the producers of pharmaceuticals to start utilizing the biomass of cultivated plants instead of collecting the biomass that naturally appears in nature. Most of these plants are grown organically; therefore, they are highly exposed to the pathogens that lower the yield of medicinal plants and modify the chemical composition of the plant extracts. The aim of this work was to evaluate and compare the effect of *N*-substituted  $\beta$ -alanine derivatives containing 1,4-naphthoquinone and thiazole fragments on the growth of St. John's wort and its ability to accumulate valuable metabolites. Five  $\beta$ -alanine compounds were used during this research, and three well known compounds (3-indolylacetic acid, 2-methyl-1,4-naphthoquinone, *N*-phenyl-*N*-tiocarbamoyl- $\beta$ -alanine) were chosen for comparison. The shoots of medicinal plants were evaluated for their growth after treatment with different concentrations (0.25–5 mg/l) of  $\beta$ -alanine derivatives. The highest growth-regulating effect on *Hypericum perforatum* L. was shown by *N*-(1,4-naphthoquinon-2-yl)- $\beta$ -alanine (**1**) (1 mg/l) and *N*-phenyl-*N*-[(5-(phenyl)methylidene)-4-oxo-2(4H)-thiazolyl]- $\beta$ -alanine (**5**) (1 mg/l); therefore, they were chosen for the further research. The shoots of St. John's wort were grown on the Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with compounds **1** and **5**. The highest amount of pigments (carotenoids, chlorophylls *a* and *b*) after a short period of cultivation was obtained in the leaves of shoots grown on the MS + **1** (1 mg/l) medium; however, treatment with compound **5** increased the content of pigments after a long period (8–9 weeks) of cultivation. According to the results, the highest content of phenolics was found in shoots grown on a medium supplemented with compound **5**.