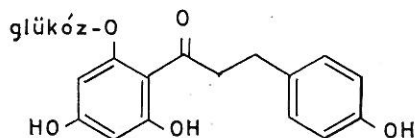


## Kalkonok és dihidrokalkonok növényi növekedésgátló hatása

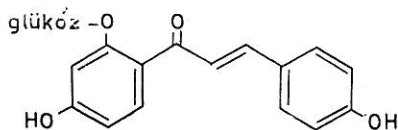
TÉTÉNYI PÉTERNÉ

CHINOIN, Biokémiai Kutató Laboratórium, Budapest

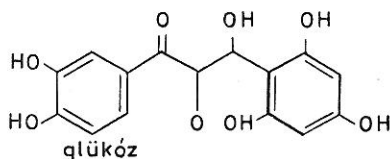
A növényvilágban előforduló sokféle gátlóanyag (inhibitor) egyik csoportjának kémiai-szerkezeti jellemzője az, hogy az odasorolható vegyületek benzolgyűrűket és fenolos OH-csoportokat tartalmaznak. A legegyszerűbb és legismertebb képviselője ennek a csoportnak a szalicilsav, a fahéjsav, p-kumársav (és laktonja a kumarin), a kávésav, a ferulasav, stb., de ide tartoznak egy alcsoportot képezve a kalkonok és a dihidrokalkonok is. Ilyen pl. az almában előforduló *floridzin* (2', 4', 6' - 4-tetraoxidhidrokalkon-2' glükozid):



valamint a fűzfa fenolos inhibitorának metabolitjaként identifikált *kalkonaringenin-2'-glükozid*:




Hasonló szerkezetű molekulák serkentőként is közreműködhetnek a növekedésszabályozásban. Így pl. auxinnal szinergista a *leukocianidin mono-glükozid* [7]:



A dihidrokalkonok közt sikerült találni olyan vegyületet is, amely több, mint ezerszer édesebb a szacharóznál [4.]. Várható, hogy a természetben

1. táblázat  
Növekedésgátlási szkrinben vizsgált kalcion és dihidrokalcion molekulák

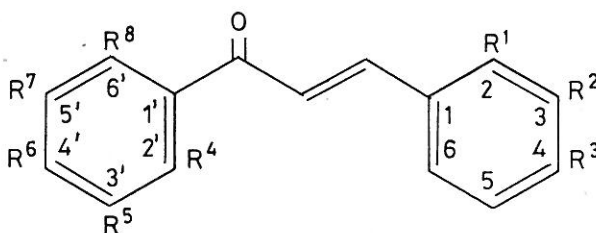
Vegyület Sor- szám	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>	R <sup>7</sup>	R <sup>8</sup>	Vegyülettípus
1		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-O-O <sub>5</sub> H <sub>11</sub> C <sub>6</sub>			dihidrokalcion
2		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Na			dihidrokalcion
3		-OH	-OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Na			dihidrokalcion
4		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH				dihidrokalcion
5		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH				dihidrokalcion
6		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> Na			kalcion
7		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> H		-OH	kalcion
8	-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OCH <sub>3</sub>		-OH	-OH	-O-O <sub>5</sub> H <sub>11</sub> C <sub>6</sub>			kalcion
9		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H			kalcion
10				-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H			kalcion
11		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> OH			dihidrokalcion
12		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> H			kalcion
13		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> Na			kalcion
14		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> Na			dihidrokalcion
15		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
16		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
17		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
18		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
19		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
20		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
21		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
22		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
23		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
24		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
25		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
26		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
27		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
28		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
29		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	dihidrokalcion
30		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
31		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion
32		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH			-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - -SO <sub>3</sub> Na	kalcion

előforduló kalkonok szkrin eredményei alapján szintézissel előállítható lesz olyan szélesspektrumú, nagy antibiotikus aktivitású kalkon-származék [1], mely a modern kombinált kemoterápiás kezelésekből perspektivikus lehet.

Ugyanilyen megfontolásokon alapszik a kalkon-dihidro-kalkon típusú molekulák növényfiziológiai hatásosságának feltételezése és a jelen közleményben tárgyalt növekedésszabályozó hatásra történő szkrin-vizsgálat.

### Anyag és módszer

A vegyületek szintézise az MTA Flavonoidkémiai Kutató Csoportja és a Chinoin Gyógyszer és Vegyészeti Termékek Gyára együttműködése keretében történt. Az 1. táblázatban foglaltuk össze a szkrinelt kalkon-dihidro-kalkon molekulák szerkezeti sajátosságait. A különböző szubsztituensek jelölése a következő séma szerint történt:



Az anyagokat vízben, vagy kevés dimetilformamidban oldottuk (utóbbi esetben vízzel hígítottuk tovább). A szkrin-vizsgálatok céljára  $10^{-3}$  mól koncentrációt találtuk legmegfelelőbbnek. (Az oldatok DMFA-koncentrációja minden esetben kisebb volt, mint 0,5 %.) Az inhibitor-hatást 0-kontrollon kívül ismert növekedési inhibitorokkal történő összehasonlítással értékeltük. Több kipróbált ismert molekula közül a legerősebben gátló kumarint és a vizsgált molekulákhoz szerkezetileg leginkább hasonló floridzint (egyes esetekben aglikonját a floretint, vagy származékát a trimetilfloridzint) használtuk.

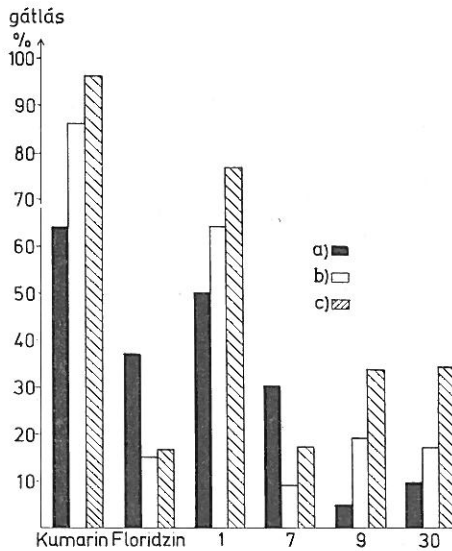
Az inhibitorhatás értékelésénél *Triticale* magvak csírázási- és koleoptil-teszt adatait vettük figyelembe. A csírázást anyagonként 3 ismétlésben és 3-3 párhuzamossal (Petri-csészénként 30-30 maggal) 72 óra után értékeltük. A csírázási, a koleoptil- és gyökérhossz adatokból gátlási százalékot számoltunk. A növekedésgátló hatás egzakt értékeléséhez egyenesnövekedésű koleoptil-tesztet használtunk, melyhez a szokásos eljárástól [8] eltérően 48 órás *Triticale* koleoptilokat preparáltunk. Az időben ismételt kísérletsorozatokban az azonos tendenciák egyértelműen mutatkoztak meg.

### Eredmények és értékelésük

A szkrin során leghatékonyabbnak bizonyult molekulákat egy „representatív” kísérletben hasonlítottuk össze. Az inhibitor hatású vegyületek gátló hatását a vizes kontroll százalékában az 1. ábrán tüntettük fel. Látható, hogy mind a csírázást, mind a koleoptil- és a gyökérnövekedést legerő-

sebben a kumarin gátolja. A vizsgált vegyületekhez hasonló szerkezetű floridin és trimetilszármazéka erősebb, de a kumarinnál gyengébb inhibitorként viselkedett az alkalmazott  $10^{-3}$  mól koncentrációnál. Mindez megegyezik HANCOCK és társai [4] megfigyelésével, akik 50 – 100 ppm floridzinnél találták koleoptil-tesztben a legalacsonyabb, még kimutatható inhibitor hatást.

A szkrinelt molekulák közül az 1 jelzésű tűnt ki magas csírázást gátlásával (50 %), továbbá gyöker- és koleoptilnövekedés gátlásával (64 % és 76 %) is legjobban megközelítette a kumarin hatását. Az 1-es molekula erősebb inhibitornak bizonyult kísérleteinkben, mint az ismert rokonvegyület,



1. ábra

A kiemelt kalkon és dihidrokalkon molekulák növekedésgátlásának összehasonlítása ismert inhibitorokkal. a) csírázás b) koleoptilnövekedés c) gyökérnövekedés

kumarinnal, melyek a flavonoidok kémiai struktúrája és enzimgátló hatása közti összefüggés megismerésére irányulnak. Így STENLID [6] azt találta, hogy a különböző flavonoidok szubsztituáltságuktól és glikozidos kötésüktől függően a növényi mitokondriumok ATP-szintézisét gátolják.

Szerző [5] egy másik közleményében arról számol be, hogy a B gyűrű 4' helyzetében fenolos OH-val szubsztituált flavonoidok  $10^{-6}$  –  $3 \cdot 10^{-5}$  M koncentrációtartományban stimulálják borsógyökér indol-3 ecetsav (IES)-oxidáz aktivitását. A flavonoknál szokásos számozás szerinti A gyűrűnél 7. pozícióban egy OH-csoport feltűnően növeli a stimulátorhatást, míg a 3' és 4' (mindkét!) hidroxilcsoportot tartalmazó molekulák gátolják az enzimaktivitást. Továbbá a 4'-nél klórral szubsztituált flavonoidok éppoly erős IES-oxidáz stimulátorok, mint maga a dihidrokalkon származék: a floridin. Szerző azonban megjegyzi, hogy ez nem komplett korreláció az IES-oxidázra és növekedésre gyakorolt hatás között. Sok molekula, ami hatásos

a floridin. A szkrin során csírázást gátlást okozott a 7-es anyag, és a floridzinnél nagyobb mértékben gátolta a gyökérnövekedést a 9-es és a 30-as jelzésű vegyület.

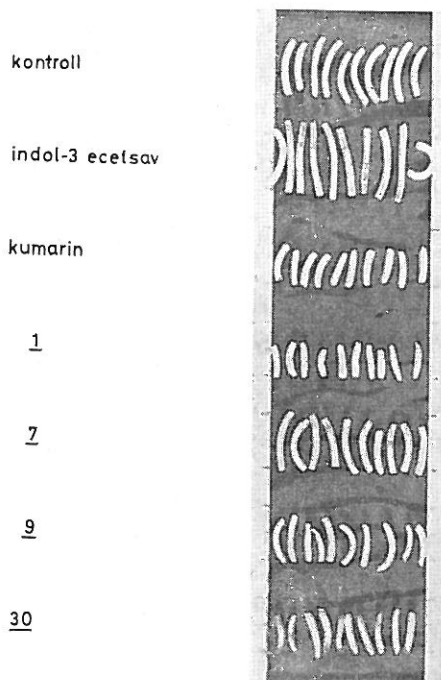
Koleoptil tesztben végzett összehasonlítás adatait foglaltuk össze a 2. táblázatban, és mutatjuk be a preparátumokat a 2. ábrán. Látható, hogy az 1 molekula még a kumarin növekedésgátlását is felülmúlja  $10^{-3}$  M koncentrációban, de a koncentrációcsökkenéssel jobban csökken gátló hatása, mint a kumariné. A 9-es és 30-as jelzésű molekula egy nagyságrenddel kisebb koncentrációjú kumarin oldattal megegyező mértékben gátolja a koleoptilnövekedést a teszt feltételei között. A koleoptil-tesztben kapott szkrin eredmények arra utalnak, hogy a kalkon-dihidrokalkon molekulák esetleg az auxin-szint befolyásolása révén fejtik ki növényi növekedésszabályozó hatásukat.

GÁBOR [2] monográfiájában egy fejezet foglalkozik azokkal az újabb

2. táblázat

**Kalkonok és dihidrokalkonok inhibitorhatása koleoptil-tesztben**

(1) Vegyület jelzése	(2) Koncentráció, M	(3) Koleoptilhossz, mm
I	$10^{-3}$	5,5
Kumarin	$10^{-3}$	6,15
9	$10^{-3}$	7,4
Kumarin	$10^{-4}$	7,85
30	$10^{-3}$	7,9
7	$10^{-3}$	8,35
30	$10^{-4}$	8,95
I	$10^{-4}$	9,25
9	$10^{-4}$	9,65
7	$10^{-4}$	9,65
Kontroll	(vizes)	9,75
Kontroll	(IES)	12,0
SzD <sub>5%</sub>		0,6



2. ábra

Növekedésinhibitorokkal ( $10^{-3}$ M) inkubált koleoptilok képe 24 óra múlva.  
(Fotó: Szejtliné)

stimulátora az IES-oxidáznak, stimulálja a gyökérnövekedést is, és antagónista az auxinokkal, míg mások gátolják az IES-oxidázt és auxin antagónisták.

Az említett megfigyelések érvényességét vizsgálataink alapján kalkonok esetében is lehetségesnek tartjuk, minthogy a flavon vegyületek bioszintézisében a kalkonoknak központi szerepet tulajdonítanak.

Szkrin-vizsgálataink során megfigyelhettük, hogy a növekedésinhibitor hatás kiváltásánál nem döntő szerepű a glikozidkötés, de a kalkon, vagy dihidrokalkon jelleg sem. Ezt igazolja kísérleteinkben a cukorrészt nem tartalmazó, de növekedésaktív 9-es és 30-as jelzésű molekula. Másrésztől, a szkrin során legjobban szerepelt 1-es anyag dihidrokalkon, míg a szintén hatásos 7-es, 9-es és 30-as vegyület kalkon. Jellemző viszont, hogy  $R^4$  = hidroxiszubsztitúció jelenléte minden esetben, továbbá  $R^2$  = hidroxil, vagy metoxil- és  $R^3$  = metoxil-, vagy benziloxil- szubsztituens volt jelen minden inhibitor molekulában.

Kísérleti eredményeink tehát alátámasztják a flavonoid anyagok egyik csoportjának, a kalkonoknak szerkezeti vonásai és növényfiziológiai hatása közötti összefüggést.

### Összefoglalás

A természetben előforduló növekedésinhibitorok (floridzin, kalkonaringenin, stb.) analógiájából kiindulva kalkon-dihidrokalkon molekulákat szkrineltünk növényi növekedésgátló tulajdonság szerint.

a) Koleoptil-teszt és csírázási vizsgálatok alapján harminckét vegyületből négy molekula bizonyult növekedés-inhibitor hatásúnak.

b) Leghatékonyabb az 1 jelzésű vegyület, amely  $10^{-3}$  M koncentrációban a kumarin gátló hatását is felülmúlja koleoptil-tesztben.

c) A leghatékonyabb inhibitor molekula szerkezetére jellemző, hogy dihidrokalkon, cukorrészt, valamint  $R^2$  és  $R^4$  helyzetben két hidroxil- és egy metoxil ( $R^3$ ) szubsztituenset tartalmaz.

A kalkon-dihidrokalkon típusú molekulák sokoldalú biológiai hatásosságát támasztják alá a növényi növekedésszabályozásban kimutatott szerepükre vonatkozó kísérleti megfigyeléseink.

### Irodalom

- [1] GÁBOR, M.: Kalkonok farmakológiája. MTA Flavonoid Munkacsoport ülésén elhangzott hozzászólás. Visegrád. 1974.
- [2] GÁBOR, M.: Abriss der Pharmakologie von Flavonoiden unter besonderer Berücksichtigung der antiödematösen und antiphlogistischen Effekte. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1975.
- [3] HANCOCK, C. K., BARLOW, H. W. B. & LACEY, H. J.: The behaviour of phloridzin in the coleoptil straight-growth test. *J. Exp. Bot.* **12**. 401–408. 1961.
- [4] RAJKY, G. et al.: Sensorische Untersuchung eines neuen Dihydrochalkon Süsstoffes. *Nahrung*. **2**. 1977. (megjelenés alatt)
- [5] STENLID, G.: The effect of flavonoid compounds on oxidative phosphorylation and on the enzymatic destruction of indole acetic acid. *Physiol. Plant.* **16**. 110–120. 1963.
- [6] STENLID, G.: Flavonoids as inhibitors of the formation of adenosine triphosphate in plant mitochondria. *Phytochemistry*. **9**. 2251–2256. 1970.

[7] STEWARD, F. C. & KRİKÖRIAN, A. D.: Plants, chemicals and growth. Academic Press, New York, 1971.

[8] VARGA, M.: Növekedésgátló anyagok papírkromatográfiás vizsgálata különös tekintettel a húsos termésekre. Kandidátusi értekezés. 1957.

Érkezett: 1976. november 9.

## Inhibitor Effect of Kalkons and Dihydrokalkons on the Growth of Plants

M. TÉTÉNYI

CHINOIN, Biochemical Research Laboratory, Budapest (Hungary)

### Summary

As an analogy to the natural growth inhibitors (floridzin, chalconaringenin, etc.) molecules of chalcon-dihydrochalcon have been screened according to their growth inhibiting effect.

a) On the basis of the Coleoptil-test and examinations of germination four molecules out of 32 compounds proved to be growth inhibitors.

b) Most effective was compound 1, which even in a concentration of  $10^{-3}$  M surpassed the inhibitor effect of coumarin in the coleoptil-test.

c) Characteristical for the structure of the most effective inhibitor molecule is that it contains dihydrochalcon, a saccharid and in the positions  $R^2$  and  $R^4$  two hydroxi- and one metoxi-group as substituents.

Our observations referring to the funktion of chalcon-dihydrochalcon in growth regulation of plants support the many-sided biological effectiveness of molecules of the chalcon-dihydrochalcon-type.

Table 1. Chalcon and dihydrochalcon molecules analysed for their growth inhibiting effect by screening. (1) Serial number and molecular weight of the compounds.

Table 2. Inhibitor effect of chalcon and dihydrochalcon in the coleoptil-test. (1) Designation of the compound. (2) Concentration. (3) Length of the coleoptil.

Fig. 1. Comparison of growth inhibition of the investigated chalcon and dihydrochalcon and of some known inhibitors. a) Germination. b) Growth of coleoptils. c) Growth of roots.

Fig. 2. Coleoptils incubated with growth inhibitors ( $10^{-3}$ M) after 24 hours.

## Wachstumshemmende Wirkung von Kalkonen und Dihydrokalkonen auf Pflanzen

M. TÉTÉNYI

CHINOIN, Biochemisches Forschungslaboratorium, Budapest (Ungarn)

### Zusammenfassung

Von der Analogie der in der Natur vorkommenden Wachstumsinhibitoren (Floridzin, Kalkonaringenin usw.) ausgehend wurden Kalkon-Dihydrokalkon-Moleküle ihrer wachstumshemmenden Wirkung nach getrennt.

a) Nach dem Koleoptil-Test und Keimungsuntersuchungen erwiesen sich aus 32 Verbindungen 4 Moleküle als Wachstumsinhibitoren.

b) Wirksamste der Verbindungen ist die Verbindung 1, die in einer Konzentration von  $10^{-3}$ M im Koleoptil-Test die hemmende Wirkung des Kumarins übertrifft.

c) Für den Aufbau des wirksamsten Inhibitor-Moleküls ist bezeichnend, dass es Dihydrokalkon, ein Saccharid, sowie in der Position  $R^2$  und  $R^4$  zwei Hydroxy- und einen Metoxy- ( $R^3$ ) Substituenten enthält.

Unsere Beobachtungen, die sich auf die Rolle der Moleküle vom Typ Kalkon-Dihydrokalkon in der pflanzlichen Wachstumshemmung bezogen, haben die vielseitige biologische Wirksamkeit dieser Verbindungen unterstützt.

*Tab. 1.* Die in den Versuch einbezogenen Kalkon und Dihydrokalkon-Moleküle (1) Bezeichnung (Nummer) und Molekulargewicht der Verbindungen.

*Tab. 2.* Inhibitor-Wirkung von Kalkonen und Dihydrokalkonen im Koleoptil-Test. (1) Bezeichnung der Verbindung. (2) Konzentration. (3) Länge des Koleoptils.

*Abb. 1.* Vergleich der Wachstumshemmung der ausgewählten Kalkon- und Dihydrokalkon-Moleküle mit bekannten Inhibitoren. a) Keimung. b) Wachstum des Koleoptils. c) Wurzelwachstum.

*Abb. 2.* Koleoptile, die mit Wachstumsinhibitoren inkubiert wurden ( $10^{-3}M$ ), nach 24 Stunden.

## Тормозящее влияние калконов и дигидрокалконов на рост растений

M. TETENI

ХИНОИН, Научно-исследовательская лаборатория биохимии, Будапешт (Венгрия)

### Резюме

По аналогии с ингибиторами роста, встречающимися в природе (флоридзин, калконарингенин и т. д.) выделили молекулы калкон-дигидрокалкона по свойствам, тормозящим рост растений.

a) На основании колеоптил-теста и исследований прорастания из 32 соединений четыре молекулы проявили ингибирующее влияние на рост растений.

b) Наиболее эффективным оказались соединения с обозначением I, которые в концентрации  $10^{-3} M$  в колеоптил-тесте оказали тормозящее влияние, превышающее влияние кумарина.

c) Для структуры молекул наиболее эффективных ингибиторов характерно то, что она содержит часть сахара дигидрокалкона, а в положении  $R^2$  и  $R^4$  — два гидроксигруппы и один метоксисубституэнт ( $R^3$ ).

Многосторонняя биологическая эффективность молекул типа калкона-дигидрокалкона подтверждается нашими наблюдениями в отношении выяснения их роли в регулировании роста растений.

*Табл. 1.* Молекулы калкона-дигидрокалкона в исследованиях по торможению роста растений. (1) Соединение, номер и молекулярный вес.

*Табл. 2.* Ингибирующее влияние калконов и гидрокалконов в колеоптил-тесте. (1) Обозначение соединения. (2) Концентрация. (3) Длина колеоптила.

*Рис. 1.* Сравнение тормозящего влияния молекул калкондигидрокалкона с другими известными ингибиторами. a) прорастание. b) рост колеоптила. c) рост корней.

*Рис. 2.* Вид колеоптилов инкубированных с ингибиторами роста ( $10^{-3} M$ ) спустя 24 часа.