

Újabb eredményeink a növényi hormonok hatásmechanizmusának kutatásában

New Results in the Research of the Activity Mechanism of Phytohormones

TÖKÉS Béla¹, BĂLAN Júlia², BODÓ Erzsébet²,
DONÁTH-NAGY Gabriella¹, SZAKÁCS János¹

¹Marosvásárhelyi Orvostudományi és Gyógyszerészeti Egyetem, ROMANIA

²SAPIENTIA Magyar Tudományegyetem, ROMANIA

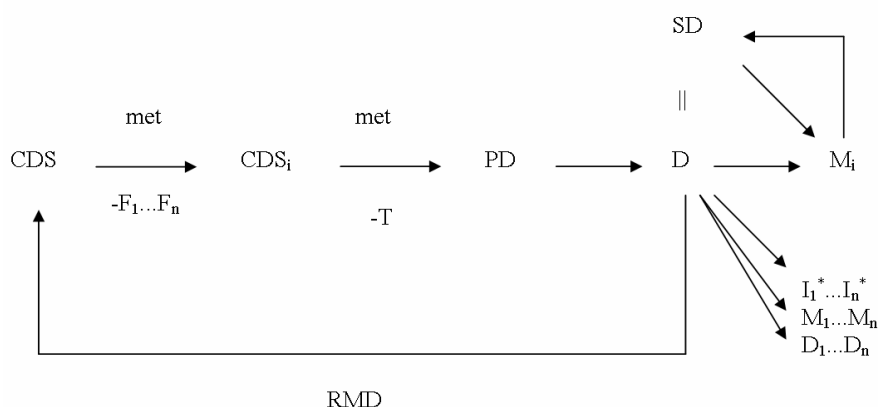
ABSTRACT

As we demonstrated previously, the concept of the „soft” chemicals can be extended on phytohormones, modifying their mechanism from oxidative in hydrolytical one. In this way, in the action mechanism of auxines doesn't form free radicals, inhibitors of the growth, in usual conditions. We realized the same effect adding natural free radical traps (ascorbic acid, polyphenols) to the auxine solutions. Beside the supposable results, we remarked supplementary some oscillatory phenomena unknown in the phytobiology.

1. BEVEZETÉS

Ismeretes, hogy a növényi hormonok (auxinok) növekedésserkentő hatása az idő és a koncentráció függvényében éles maximumon halad át [1]. Ennek, illetve az auxinok hatásmechanizmusának a magyarázatára több elmélet született, amelyek közül az tűnik elfogadhatóbbnak, hogy az auxin működése közben fotooxidáció megy végbe, ami szabadgyökképződéshez vezet, a szabadgyökök viszont gátolják (feed-back) a hormon további hatását. Ennek a mechanizmusnak a bizonyítására felhasználtuk Bodor retrometabolizmusra alapozott gyógyszer- és vegyszertervezés felfogását [2]. Céljának elérésére Bodor két utat ajánl: a kémiai célbajuttatás rendszerét (CDS) és a lágy gyógyszerek (SD) létrehozásának lehetőségét (1. ábra).

Ez az elmélet arra irányul, hogy élőszervezetekbe jutó gyógyszerek (vegyszerek) oxidatív metabolizmusát hidolitikusra cserélje ki, és ily módon – a szabadgyökképződés kizárásával – csökkentse a vegyületek toxicitását, illetve – gyógyszerek esetén – növelje azok terápiás hatását:



1. ábra

A retrometabolikus gyógyszertervezés elvi vázlatja

1: Gyógyszer-toxicitás:

$$T(D) = T^D(i) + T(A_1, A_2, \dots, A_n) + T(M_1, M_2, \dots, M_n) + T(I^*_1, I^*_2, \dots, I^*_n)$$

$T^D(i)$; intrinszik toxicitás
 A_1, A_2, \dots, A_n ; analóg metabolitok D típusú hatással
 M_1, M_2, \dots, M_n ; más metabolitok
 $I^*_1, I^*_2, \dots, I^*_n$; reaktív köztitermékek
 $TI = TD/ED$; terápiás index
 T = toxicitás
 TD = Toxikus dózis
 ED = Effektív dózis

2: *Vegyszerek (C):*

$T(C) = TC(i) + T(C_1, C_2, \dots, C_n) + T(M_1, M_2, \dots, M_n) + T(I^*_1, I^*_2, \dots, I^*_n)$

$TC(i) \ll TD(i)$

$I^*_1, I^*_2, \dots, I^*_n$; fontosabb köztitermékek

$SI = TD/EmD$; biztonsági index

EmD = Maximális környezeti dózis

Az adott vegyület „meglágyítása” gyakran úgy érhető el, hogy a molekulában lévő telített oldalláncokban két vicinális metilénsoportot velük izoelektronikus és izosztérikus észter- vagy fordított észter-csoporttal cserélnek ki.

2. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK, MÓDSZEREK

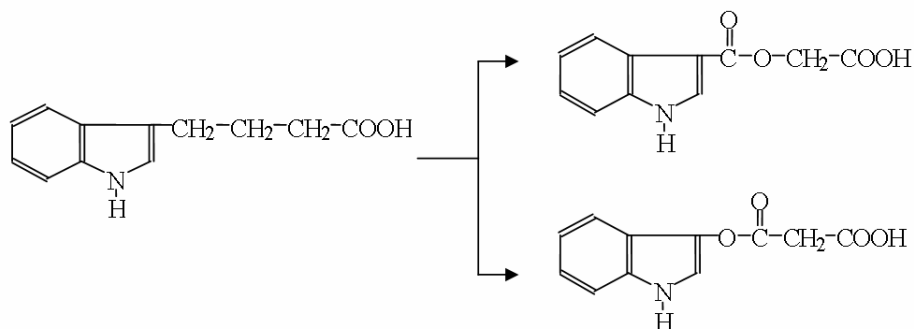
A tanulmányozott vegyületeket (nitronok, „lágyított” auxinok) kutatócsoportunk szintetizálta, azonosításukat, szerkezet- és tisztaságvizsgálatukat elemi analízissel és IR spektrumok alapján végezte [6].

A csíráztatási kísérletekhez búzaszemeket használtunk, a tápoldat auxint és aszkorbinsavat tartalmazott, adott koncentrációban. Vizsgáltuk a csíra hosszának növekedését az idő függvényében. Méréseinket minden esetben 50-50 gabonaszemen végeztük, eredményeinket átlagoltuk és statisztikusan feldolgoztuk.

Az auxin-tormaperoxidáz-oxigén rendszerben az időbeli oszcillációkat potenciometriásan követtük, a Pt-elektrod jelének időbeli változását rögzítettük. A peroxidázt tormából vontuk ki Tris pufferoldat segítségével [4, 5].

3. EREDMÉNYEK

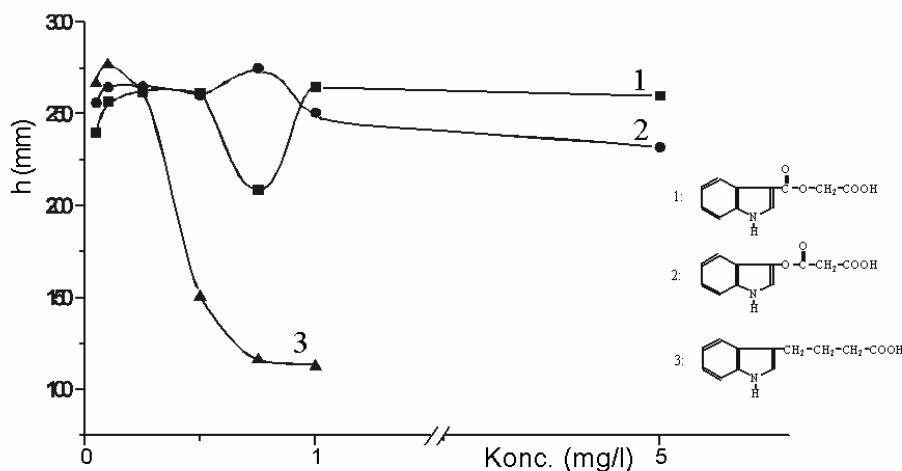
Kutatócsoportunk az indolil-vajsav (IBS) etilénsoportját kelyettesítette észter- illetve fordított észter csoporttal [6] (2. ábra):



2. ábra

Az indolil-vajsav meglágyítása

Kutatásaink során azt észleltük, hogy az auxin-hatás a „lány” IBS esetén nem halad át maximumon, hanem egy határérték elérése után, jó közelítéssel állandó marad, tehát az oxidatív bomlás kizárása a hatásgátlás megszűnésével jár együtt. (3. ábra).

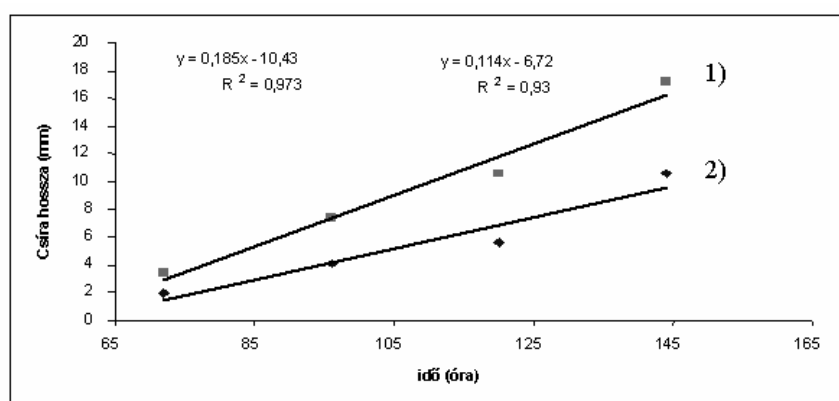


3. ábra

Az IBS és a megfelelő „lány” észterek növekedés-serkentő hatása etiolált zabkoleoptilre.

Ez az eredmény eredeti (szabadgyökös mechanizmusra vonatkozó) elképzelésünket igazolta. Logikus következtetésként feltételeztük, hogy minden szabadgyökfogó adaléknak az auxinok hatását hasonló módon kell befolyásolnia. Erre a célra elsősorban olyan anyagokra gondoltunk, amelyek a növényi szervezetek számára nem idegenek (pl. polifenolok).

A vizsgálatok első szakaszában a szabadgyökbefogást aszkorbinsav hozzáadással valósítottuk meg (4. ábra). Az ábrából kitűnik, hogy azoknak a búzaszemeknek a csírájuk gyorsabban fejlődött, amelyeket olyan tápoldaton csíráztattunk, melyek az indolecetsav mellett gyökfogót is tartalmazott.

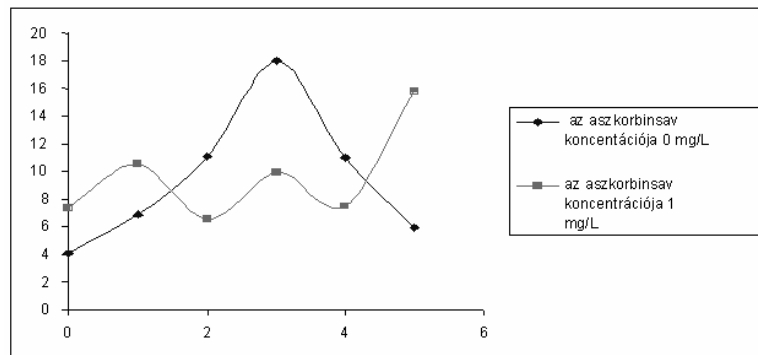


4. ábra

A búzacsíra időbeli növekedése: 1) Vakpróba, 2) Auxinkoncentráció 1 mg/l

Az eredmények általában megfeleltek a várakozásnak, de a hatás a vártnál sokkal komplexebb volt. Az éles maximumon való áthajlás nem jelentkezett, de – ezzel szemben – fellépett egy periodikus hatásgátlás,

amelyet úgy értelmezünk, hogy a sorozatos serkentés-gátlás egy különleges esetének, mint oszcillációs jelenségnek, vagyunk a tanúi (5. ábra).

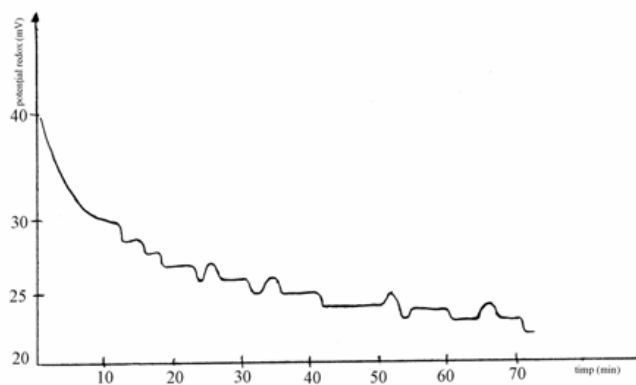


5. ábra

A csírák hosszának változása az auxinkoncentráció függvényében 120 óra után

Az egzotikus oszcillációs reakciók számos esete ismert mind a kémiában, mind pedig az élő szervezetekben, a fitobiológiában azonban hasonló jelenséget ritkán írtak le.

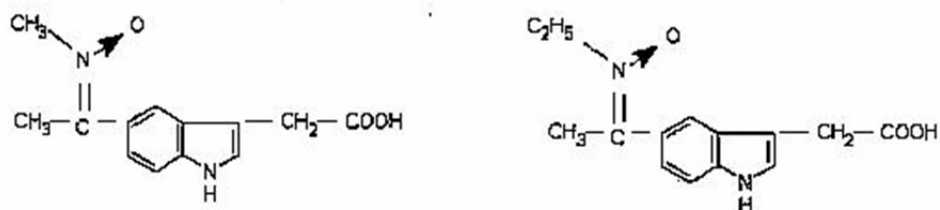
Ilyen jelenséget észlelt Degn [3] az auxin – peroxidáz – oxigén rendszerben. Azt tapasztalta, hogy in vitro, oszcillációs reakciók lépnek fel, amit az oxigén-koncentráció változásának követésével mutattak ki. Mi ezt a jelenséget a rendszer redoxipotenciáljának a mérése útján tanulmányoztuk. Mivel az említett szerzők szerint egyes fenolok a reakciót fokozzák, megvizsgáltuk néhány növényi polifenol (morin, rutin) hatását is (6. ábra). Ezek a körülmények a növényi szervezetekben is kialakulhatnak. Bár a fellépő oszcillációs reakciók részletes mechanizmusa igen bonyolult, a megfigyelések alapján feltételezzük, hogy a növényéletben ismert maximum áthaladó auxin-hatás az oszcillációs folyamatok egyik természetes megnyilvánulási formája [4].



6. ábra

Az IES-tormaperoxidáz-oxigén rendszer redoxi-potenciáljának időfüggése, polifenolok jelenlétében.

A határmechanizmus tisztázása érdekében kutatócsoportunk olyan vizsgálatokat is végzett, amelyekben a gyökfogót – ebben az esetben a nitron csoportot – nem az oldathoz adta, hanem az auxin szerkezetébe építette be (7. ábra):



7. ábra
A vizsgált, nitron csoportot tartalmazó auxinok

Fitobiológiai vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a szintetizált vegyületek nem genotoxikusak (nem módosítják a növényi kromoszómák szerkezetét), a növekedésserkentő hatásmechanizmusuk pedig megfelel azoknak a kísérleteknek, amelyekben a gyökfogót az auxin oldatához adtuk.

4. KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérleti eredmények azt bizonyítják, hogy az auxinok lebomlása a növényi szervezetben, természetes körülmények között gyökös mechanizmus szerint megy végbe. Az auxin „meglágyítása” során a gyökös lebomlás helyett a hidrolitikus reakcióút válik valószínűbbé, nem jelentkezik tehát a keletkező szabadgyökök gátló hatása. Hasonló eredményhez jutunk, ha az auxin oldatához természetes gyökfogókat (aszorbinsavat, polifenolokat) adunk, vagy a gyökfogót (esetünkben nitroncsoportot) beépítjük az auxin szerkezetébe. A beépített nitroncsoportot tartalmazó auxinok genotoxicitására vonatkozó vizsgálatok eredményei negatívak.

A fitobiológiában igen ritkán tapasztalt oszcillációs jelenséget is megfigyelhettünk az auxin hatásmechanizmusában az auxinkoncentráció, valamint az idő függvényében.

IRODALOM

- [1]. Antolič S, Salopek B, Kojič-Prodič B, Magnius V, Cohen JD: Plant Growth Regulation, **27**, 21 (1999).
- [2]. Bodor N: In: DeVito S, Garrett RL (eds.): Designing safer chemicals. Green Chemistry for pollution prevention. ACS Symposium Series No. 640, p. 84, Washington, 1996.
- [3]. Degn H: In: Chance B, Pye EK, Ghosh AK, Hess B (eds.): Biological and biochemical Oscillators. Chemiluminescence in oscillatory oxidation reactions catalyzed by horseradish peroxidase. Academic Press, New York-London, 1973, p. 97.
- [4]. Donáth-Nagy Gabriella, Tőkés B., Szilágyi Erzsébet: Studiul unor oscilatori fitobiologici, Revista de Medicină și Farmacie – Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle, 2004, **50**:17-20
- [5]. Szilágyi Erzsébet: Reacții oscilante. Aplicații fitobiologice. Lucrare de diplomă, Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg. Mureș
- [6]. Tőkés B, Ferencz L, Szakács J, Kelemen L, Darkó B: Pharmazie, **55**, 3 (2000).