



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS**  
**CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**Kristina Marinescu**

**$\alpha$ -AMINORŪGŠČIŲ IR N,N-PAKEISTŲ- $\beta$ -AMINORŪGŠČIŲ  
SU AZOLŲ FRAGMENTAIS BIOLOGINIO AKTYVUMO  
TYRIMAS**

Baigiamasis magistro darbas

**Vadovas**

Doc. dr. Ilona Jonuškienė

**KAUNAS, 2016**

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS**

**CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**$\alpha$ -AMINORŪGŠČIŲ IR N,N-PAKEISTŲ- $\beta$ -AMINORŪGŠČIŲ  
SU AZOLŲ FRAGMENTAIS BIOLOGINIO AKTYVUMO  
TYRIMAS**

Baigiamasis magistro darbas  
Taikomoji chemija (kodas 621F10003)

**Vadovas**

Doc. dr. Ilona Jonuškienė

**Recenzentas**

Doc. dr. Ingrida Tumosienė

**Darbą atliko**

Kristina Marinescu

**KAUNAS, 2016**



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

---

Kristina Marinescu

---

Studijų programa Taikomoji chemija (kodas 621F10003)

---

„ $\alpha$ -Aminorūgščių ir N,N-pakeistų- $\beta$ -aminorūgščių su azolų fragmentais biologinio aktyvumo tyrimas“

**AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA**

20 16 m. birželio 6 d.  
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Kristinos Marinescu**, baigiamasis projektas tema „ $\alpha$ -Aminorūgščių ir N,N-pakeistų- $\beta$ -aminorūgščių su azolų fragmentais biologinio aktyvumo tyrimas“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

---

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

---

(parašas)

Marinescu, Kristina.  $\alpha$ -Aminorūgščių ir N,N-pakeistų- $\beta$ -aminorūgščių su azolų fragmentais biologinio aktyvumo tyrimas. Chemijos magistro baigiamasis darbas / vadovas doc. dr. Ilona Jonuškienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: fiziniai mokslai, chemija

Reikšminiai žodžiai: *N,N-pakeistos- $\beta$ -aminorūgštys, aminorūgštys, azolai, rapsai.*

Kaunas, 2016. 55 p.

## SANTRAUKA

Mokslininkai bando surasti naujas biologiškai aktyvias medžiagas, kurios padėtų kovoti su augalų ligomis bei padidintų jų derlių. Todėl šiuo darbu buvo siekiama surasti naujas medžiagas, kurios pasižymėtų antibakteriniu, antioksidaciniu ar augalų augimą reguliuojančiu veikimu.

Azolai yra klasė junginių, kurie gali pasižymėti biologiniu aktyvumu. Todėl yra sintetinami junginiai, savo struktūroje turintys įvairius azolų fragmentus, pvz., 1,2,4-triazolus, 1,3-tiazolus, 1,3,4-tiadiazolus, 1,3,4-oksadiazolus. Šiame darbe buvo tirta  $\alpha$ -aminorūgštys ir Kauno technologijos universitete susintetinti nauji N,N-pakeisti- $\beta$ -alanino junginiai. Buvo siekiama įvertinti jų biologinį aktyvumą.

Iš gautų rezultatų nustatyta, kad 3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-bromfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis turėjo didžiausią antibakterinį poveikį. Geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis pasižymėjo 3-[5-{1-[(E)-2-((Z)-1{2-[(3-hidroksi-3-oksopropil)-(4-metoksifenil)amino]-4-metil-1,3-tiazol-5-il}etiliden)hidrazono}etil-4-metil-1,3-tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis.

Rapsų *in vitro* tyrimuose buvo nustatyti trys labiausiai augimą ir metabolitų kaupimąsi skatinę junginiai: 3-[(4-metoksifenil)(1,3-tiazol-2-il)amino]propano rūgštis, 3-[[4-(4-fluorfenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis, 3-[[5-[(4-chlorfenil)metilen]-4-okso-tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis.

Marinescu, Kristina.  *$\alpha$ -Amino Acids And N, N-substituted- $\beta$ -amino Acids With Azole Fragments Biological Activity Research*: Master's thesis in Chemistry / supervisor assoc. prof. Ilona Jonuškienė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Physical Sciences, Chemistry.

Key words: N, N-substituted- $\beta$ -amino acids, amino acids, azoles, rapeseed.

Kaunas, 2016. 55 p.

## SUMMARY

Scientists are trying to discover new biologically active substances, which could improve plants resistances to diseases and would increase crop yields. Therefore, the goal of this work was to investigate new materials, which could have antibacterial, antioxidant activities or plant growth regulating properties.

Azoles are a class of compounds, which can have biological activity. This is why, there have been synthesized compounds, which has in them structure fragments of the various azoles, for example, 1,2,4-triazole, 1,3-thiazole, 1,3,4-thiadiazole, 1,3,4-oxadiazole. In this work was investigated  $\alpha$ -amino acids and new N, N-substituted- $\beta$ -alanine derivatives, which was synthesized in Kaunas University of Technology and was evaluated their biological activity.

The evaluate showed that compound 3 - [(4-methoxyphenyl) - {4-methyl-5- [3- (4-bromophenyl) prop-2-enoyl] -1,3-thiazol-2-yl} amino]propionic acid had the greatest antibacterial activity. The best antioxidant activity had 3-[5-{1-[(*E*)-2-((*Z*)-1{2-[(3-hidroxi-3-oxopropyl)-(4-metoxiphenyl)amino]-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl}etiliden)hidrazono}etil-4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-(4-metoxiphenyl)amino]propionic acid.

Also, there was determined three compounds, which increased *in vitro* germination of rapeseed: 3 - [(4-methoxyphenyl) (1,3-thiazol-2-yl) amino] propionic acid, 3 - [{4- (4-fluorphenyl) thiazol-2- yl} - (4-methoxyphenyl) amino]propionic acid, 3-[[5 - [(4-chlorphenyl) methylene] -4-oxo-thiazol-2-yl)-(4-methoxyphenyl) amino]propionic acid.

## TURINYS

ĮVADAS .....	8
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	9
1.1 Azolo junginių biologinis aktyvumas .....	9
1.1.1 Antibakterinis aktyvumas .....	9
1.1.2 Antioksidacinis aktyvumas .....	10
1.1.3 Augalų augimo reguliatoriai .....	11
1.2 Fitohormonai .....	12
1.3 Aminorūgštys .....	14
1.4 Augalų metabolitai .....	14
1.4.1 Chlorofilas ir karotinoidai .....	15
1.4.2 Gliukozinolatai ir mirozinazė .....	15
1.5 Rapsai ( <i>Brassica napus</i> L.) .....	17
1.5.1 Žieminių rapsų veislės .....	17
1.5.2 Rapsų ligos.....	18
1.6 Rapsų derliaus didinimas .....	20
1.6.1 Aminorūgštys žemės ūkyje .....	20
2. METODINĖ DALIS .....	21
2.1 Antibakterinio aktyvumo nustatymas.....	29
2.2 DPPH laisvo radikalo slopinimo tyrimas .....	30
2.3 Rapsų daigumo in vitro nustatymas .....	30
2.4 Augalų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo tyrimas .....	30
2.5 Maitinamosios terpės paruošimas .....	31
2.6 Chlorofilo a ir b bei karotinoidų nustatymas augaluose.....	32
2.7 Baltymų kiekio nustatymas rapsuose .....	33
2.8 Mirozinazės aktyvumo įvertinimas .....	34
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	36
3.1 Antibakterinio aktyvumo įvertinimas.....	36
3.2 Antioksidacinio aktyvumo tyrimai .....	37
3.2.1 Junginių antioksidacinio aktyvumo įvertinimas DPPH metodu .....	37
3.2.2 Aminorūgščių antioksidacinio aktyvumo įvertinimas .....	39
3.3 Augalų augimą reguliuojančių savybių įvertinimas.....	39
3.3.1 Junginių poveikio rapsų daigumui in vitro įvertinimas .....	39

3.3.2	Aminorūgščių poveikio rapsų daigumui in vitro įvertinimas .....	42
3.4	Rapsų metabolitų įvertinimas .....	43
3.4.1	Chlorofilo a ir b bei karotinoidų kiekių rapsuose įvertinimas .....	44
3.4.2	Baltymų kiekio rapsuose įvertinimas .....	46
3.4.3	Rapsų mirozinazės aktyvumo įvertinimas .....	49
	IŠVADOS .....	51
	LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	52
	DALYVAVIMAS MOKSLINĖSE KONFERENCIJOSE .....	56

## IVADAS

Didėjant žmonių populiacijai, auga ir susirūpinimas dėl ligų plitimo, maisto trūkumo ir pasaulinio klimato kaitos. Todėl yra svarbu surasti biologiškai aktyvias medžiagas, kurios padėtų spręsti šias problemas.

Patogeninės bakterijos, grybeliai ir virusai žmonėms ir augalams sukelia ligas. Neracionalus esamų vaistų naudojimas mažina jų veiksmingumą ir didina atsparių jiems mikroorganizmų augimą.

Šiltėjantis klimatas ir augantis maisto poreikis, verčia ieškoti naujų auginimo technologijų. Vienas iš būdų panaudoti biologiškai aktyvius sintetinius junginius, kurie leistų reguliuoti augalų augimą.

Šiuo darbu siekiama surasti naujas medžiagas, kurios pasižymėtų antibakteriniu, antioksidaciniu ar augalų augimą reguliuojančiu veikimu.

**Darbo tikslas:** ištirti ir įvertinti  $\alpha$ -aminorūgščių ir Kauno technologijos universiteto Organinės chemijos katedroje susintetintų N,N-pakeistų- $\beta$ -aminorūgščių su azolų fragmentais biologinį aktyvumą.

Siekiant tikslo reikėjo įvykdyti šiuos darbo uždavinius:

- Įvertinti naujai susintetintų junginių antibakterinį aktyvumą;
- Nustatyti tiriamų junginių antioksidacinį aktyvumą;
- Nustatyti junginių poveikį rapsų augimui *in vitro* ir ištirti rapsų ekstraktų antioksidacinį aktyvumą;
- Atrinkti junginius ir nustatyti jų poveikį rapsų metabolitų susidarymui: chlorofilui *a*, chlorofilui *b*, karotinoidams bei baltymams;
- Nustatyti mirozinazės aktyvumą rapsuose, augintuose maitinimo terpėje, papildytoje atrinktais junginiais;
- Rekomenduoti naujus biologiškai aktyvius junginius tolimesniems tyrimams.



# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1 Azolo junginių biologinis aktyvumas

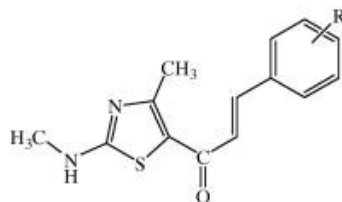
Azolai – tai klasė heterociklinių junginių, kurie pasižymi biologiniu aktyvumu [1]. Todėl yra kuriami vaistai, kurie savo struktūroje turi įvairius azolus, pvz., 1,2,4-triazolus, 1,3-tiazolus, 1,3,4-tiadiazolus, 1,3,4-oksadiazolus [2, 3]. Be to, azolo fragmentą turintys junginiai gali būti randami gyvuose organizmuose, kaip antriniai metabolitai – alkaloidai [4].

Žinoma, kad 1,3,4-oksadiazolai, 1,3,4-triazolai, 1,3,4-tiadiazolai gali būti naudojami gydant diabetą, hipertenziją, artritą, tuberkuliozę, alergijas bei pasižymi antimikrobinu, antioksidaciniu, uždegimą slopinančiu ir antivirusiniu veikimu [2]. Kai kurie triazolai yra augalų augimo reguliatoriai [5]. Tiazolai taip pat pasižymi priešvėžiniu veikimu [6].

### 1.1.1 Antibakterinis aktyvumas

Didėjant mikroorganizmų atsparumui antibiotikams, darosi vis svarbiau surasti naujus vaistus, kurių veikimas skirtųsi nuo jau esamų. Todėl mokslininkai Liaras su kolegomis susintetino junginius, turinčius du biologiškai aktyvius fragmentus – tiazolą ir chalkoną. Taip buvo tikimasi gauti veiksmingesnius antimikrobinius junginius [7].

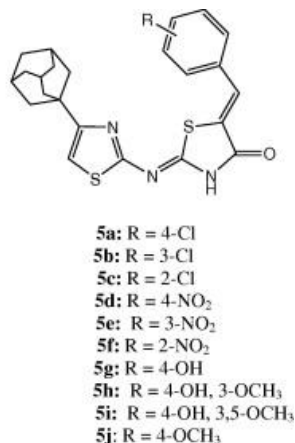
Ši mokslinė grupė susintetino dešimt naujų junginių su chalkono ir tiazolo fragmentais (1.1 pav.) ir ištyrė jų antibakterinį poveikį gramneigiamoms ir gramteigiamoms bakterijoms. Atlikus tyrimus buvo nustatyta, kad visi junginiai turėjo arba tokį patį, arba geresnį antibakterinį aktyvumą nei ampicilinas, bet buvo mažiau aktyvūs, lyginant su streptomycinu. Rezultatai parodė, kad jautriausia junginiams buvo gramneigiama bakterija *E.faecalis*, o atspariausia – gramteigiama *Listeria monocytogenes*.



1.	H	6.	2-Cl
2.	4-NO <sub>2</sub>	7.	4-OMe
3.	3-NO <sub>2</sub>	8.	2-OMe
4.	4-Cl	9.	2,6-diCl
5.	3-Cl	10.	2,4-diCl

1.1 pav. Chalkonai su tiazolo fragmentu

Kitame tyrime Omar su kolegomis susintetino naują klasę tiazolinonų, savo struktūroje turinčių tris biologiškai aktyvius fragmentus: tiazolo, tiazolidinono ir adamantino (1.2 pav.). Buvo ištirtas susintetintų junginių antibakterinis aktyvumas. Tyrimui naudotas gramneigiamos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. typhimurium*, *Proteus mirabilis*) ir gramteigiamos (*B. cereus*, *M. flavus*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*) bakterijos [8].



1.2 pav. Nauji tiazolinonai

Rezultatai parodė, kad 4-adamantilo-2-tiazolilimino-5-arylideno-4-tiazolidinonai (**5a-j** junginiai) gerokai labiau slopino augimą gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų, lyginant su streptomycinu ir ampicilinu. Labiausiai tiazolidinono junginiams jautri buvo gramteigiama bakterija *B. cereus*, o atspariausia – gramteigiama *Proteus mirabilis*.

### 1.1.2 Antioksidacinis aktyvumas

Antioksidantai yra svarbūs dėl savo savybės – apsaugoti organizmą ir ląsteles nuo pažeidimų, kurie gali atsirasti oksidacinio streso metu. Todėl mokslininkai stengiasi susintetinti arba išskirti iš natūralių šaltinių junginius, kurie pasižymėtų antioksidacinėmis savybėmis [9].

Keli sintetiniai antioksidantai, tokie kaip butilintas hidroksitoluenas ir butilintas hidroksianizolis, buvo komerciškai prieinami ir naudojami maisto pramonėje. Tačiau dėl šalutinio poveikio, jie yra uždrausti. Todėl yra sintetinami nauji junginiai ir tiriama jų antioksidacinės savybės [3]. Mokslininkai Jaishree ir Ramdas susintetino ir ištyrė *in vitro* tiazolo darinių antioksidacinį aktyvumą. Tyrime buvo įvertintas junginių aktyvumas azoto oksido, vandenilio peroksido laisvų radikalų neutralizavimui. Buvo nustatyta, kad visi naujai susintetinti junginiai turi didelį arba vidutinį radikalų neutralizavimo aktyvumą, palyginus su standartiniu askorbo rūgšties.

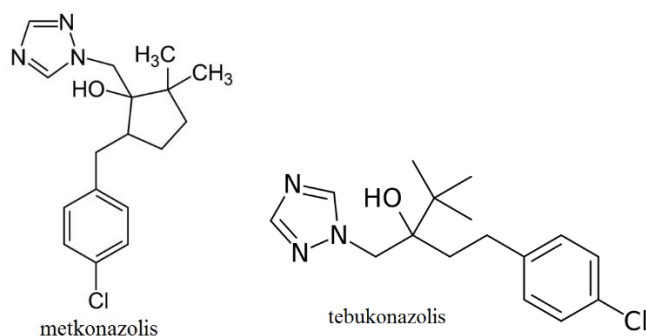
Kita mokslininkų grupė, vadovaujama Khan, susintetino naujus 1,2,4-triazolo ir 1,3,4-tiadiazolo junginius, kurie buvo ištirti su 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH) radikalu ir peroksido anijonu, įvertinant jų antioksidacinį aktyvumą. Nustatyta, kad keletas turėjo didelį aktyvumą neutralizuojant peroksido anijoną. Geriausias buvo N-(2,4-dimetilfenil)-5-(4-nitrofenil)-1,3,4-tiadiazol-2-aminas, kuris parodė didesnę aktyvumą nei kontrolė – antioksidantas propilgalatas [1].

Madhu su kolegomis atliko tyrimus su sulfidrilu grupę turinčiais 1,2,4-triazolų junginiais, siekiant įvertinti jų antioksidacines savybes *in vitro* ir *in vivo*. Antioksidacinio aktyvumo nustatymui naudoti DPPH ir FRAP metodai, o *in vivo* tyrimai atlikti su pelėmis. Nustatyta, kad N-amino-5-merkaptio-3-pakeistų-1,2,4-triazolų junginiai turi gerą antioksidacinį aktyvumą ir nėra toksiški, naudojant 1600mg/kg kūno masės [9].

### 1.1.3 Augalų augimo reguliatoriai

Augalų augimo reguliatoriai – tai junginiai, kurie mažomis koncentracijomis veikia augalo fiziologines ir biochemines savybes. Tai natūraliai augaluose randamos medžiagos – fitohormonai. Taip pat yra žinoma, kad kai kurie sintetiniai junginiai gali paveikti natūralius augimo reguliatorius ir skatinti arba slopinti jų biosintezę augaluose [10]. Tokių sintetinių junginių panaudojimas augalininkystėje padeda kontroliuoti fiziologines augalo savybes, metabolitų susidarymą ir svarbiausia padidinti derlių.

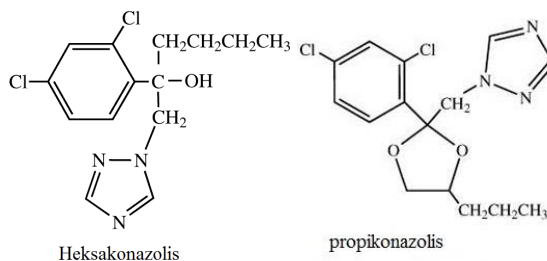
Žinoma, kad triazolo junginiai augalams padeda įsisavinti mineralus. Taip pat jie gali stabdyti giberelino, abczico rūgšties ir sterolių sintezę. Metkonazolas ir tebukonazolas (1.3 pav.) – augimo reguliatoriai, kurie apsaugo augalus nuo grybinių ligų. Šie triazolai slopina giberelino ir sterolių sintezę augaluose. [5].



1.3 pav. Metkonazolio ir tebukonazolio struktūros

Rajalekshmi su kolegomis tyrė kaip triazolai keičia antioksidantų kiekius augaluose. Tyrimuose naudojo propikonazolį ir heksakonazolį (1.4 pav.). Rezultatai parodė, kad šiais

junginiais purkštuose *Plectranthus aromaticus* ir *Plectranthus vittiveroides* augaluose buvo nustatytas didesnis askorbo rūgšties kiekis. Ši rūgštis yra svarbi augalų antioksidacinės sistemos dalis. Taip pat šie triazolai padidino tirtuose augaluose tokoferolio ir fenolių kiekius. Visi šie junginiai yra antioksidantai ir padeda augalui apsisaugoti nuo neigiamo aplinkos poveikio [11].



**1.4 pav.** Propakonazolio ir heksakonazolio struktūra

## 1.2 Fitohormonai

Sudėtingų daugialąsčių organizmų įvairių organų medžiagų apykaitą, augimą ir vystymąsi reguliuoja cheminės medžiagos, vadinamos hormonais. Augaluose šie junginiai vadinami fitohormonais. Jie biocheminėmis reakcijomis kontroliuoja ląstelių fiziologinius procesus [12].

Fitohormonai susidaro tam tikruose organuose ir biologinį signalą perduoda per receptorių į kitas augalo dalis. Jas augimo reguliatoriai pasiekia per augalų apytakinius audinius – medieną ir karnieną. Šiuo metu yra skirtos septynios augalų hormonų grupės: auksinai, citokininai, giberelinai, abscizo rūgštis, etilenas, žazmono rūgštis ir brasinosteroidai (1.5 pav.)

Auksinai buvo patys pirmieji atrasti fitohormonai. Svarbiausias šios grupės atstovas yra 3-indolilacto rūgštis, kuri savo chemine struktūra panaši į gyvūnų hormoną – melatoniną. Auksinai dalyvauja beveik visose augalų vystymosi stadijose. Jie stimuliuoja ląstelių ilgėjimą ir dalijimąsi, rėtinių ir vandens indų audinio diferenciaciją. Taip pat skatina šaknų vystymąsi ir šoninių šaknų formavimąsi. Auksinai gali reguliuoti kryptingą augalo lenkimąsi, pavyzdžiui, daigų lenkimąsi į šviesą ir šaknų lenkimąsi pagal sunkio jėgos kryptį. Šie hormonai gali lėtinti vaisių ir lapų brendimą. Be to, gali stimuliuoti kito fitohormono metileno gamybą.[13]

Citokininai yra antri pagal svarbą fitohormonai, kurie savo chemine struktūra panašūs į adeniną. Jie skatina augalų ląstelių dalijimąsi ir jų augimą audiniuose, šaknų vystymąsi ir gali stabdyti senėjimo procesus bei chlorofilo yrimą lapuose [14].

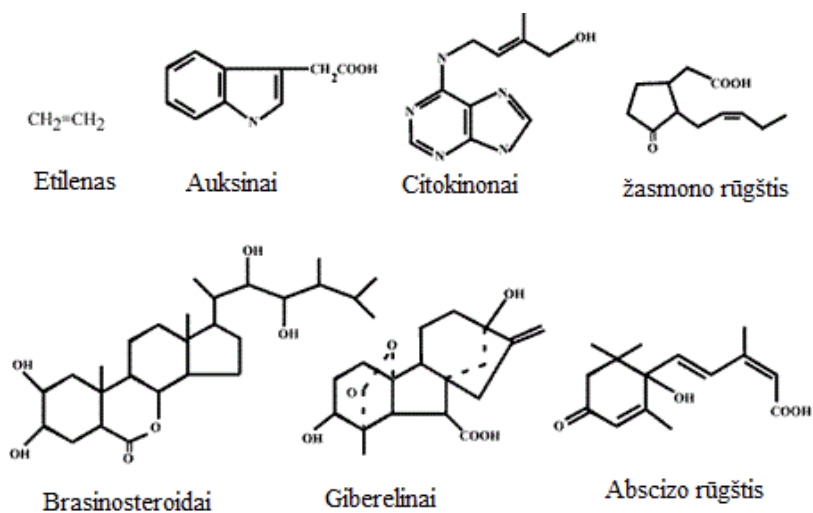
Giberelinų yra labai daug, bet ne visi turi biologinį aktyvumą. Juo pasižymi giberelino rūgštis. Ji pirmą kartą buvo atrasta grybuose, kurie gali stimuliuoti augalų ląstelių pailgėjimą ir skatinti stiebo ištytimą. Šis hormonas taip pat svarbus augalų žydėjimui. Giberelino rūgšties

junginiai turi 19–20 anglies atomus, sudarančius keturių ar penkių žiedų sistemą. Todėl pagal cheminę sudėtį panašūs į diterpenus. Svarbu paminėti, kad gibereleno rūgštis yra abscizo rūgšties antagonistas, nes skatina amilazės gamybą [13].

Abscizo rūgštis daugiausia veikia kaip inhibitorius. Ji stabdo pumpurų augimą, šaknų vystymąsi, amilazės sintezę bei skatina sėklas kaupti baltymus. Taigi abscizo rūgštis reguliuoja sėklos ramybės būseną. Tačiau ji turi ir kitą svarbią funkciją. Šis fitohormonas reguliuoja augalo vandens pusiausvyrą ir toleranciją osmosiniam stresui. Vandeni abscizo rūgštis padeda išlaikyti, skatindama lapų žiotelių užsivėrimą, o ląstelės toleranciją vandens trūkumui stiprina, sužadindama osmosinio streso toleravimui svarbius genus. [15].

Etilenas – tai dujinės fazės medžiaga, kuri labiausiai žinoma, dėl vaisiaus nokinimą skatinančių savybių. Tai pačios paprasčiausios struktūros augalų hormonas, kurį gamina visi aukštesnieji augalai. Taip pat etilenas skatina šaknų augimą, žiedų skleidimąsi, lapų ir gėlių senėjimą [16, 13].

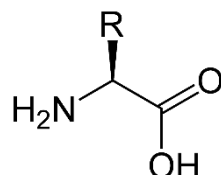
Neseniai augalų hormonams buvo priskirti žazmono rūgštis ir brasinosteroidai. Pastarieji pasižymi slopinančių poveikių šaknų vystymuisi ir lapų kritimui ir skatina medienos formavimąsi. Žazmono rūgštis – tai fitohormonas, riebalų rūgšties darinys, kuris savo struktūra ir biologiniu aktyvumu panašus į prostaglandinus, randamus gyvūnų organizmuose. Ši rūgštis reguliuoja augalų gynybinius procesus, kurie apsaugo nuo vabzdžių, virusų ir patogeninių bakterijų.



1.5 pav. Augalų augimo reguliatoriai

### 1.3 Aminorūgštys

Gamtoje yra atrasta daugiau nei 700 aminorūgščių (1.6 pav.) ir beveik visos jos –  $\alpha$ -aminorūgštys. Jos egzistuoja arba laisva forma, arba susijungusios į didesnes molekules ir sudaro peptidus bei baltymus. Taip pat augaluose, grybeliuose ir bakterijose jos naudojamos įvairių antrinių metabolitų biosintezei. Pavyzdžiui, daugelis alkaloidų yra sudaryti iš fenilalanino ir tirozino [17].



1.6 pav. Bendroji aminorūgščių formulė

Aminorūgštis prolinas yra viena svarbiausių augaluose. Ji yra sintetinama iš L-glutamato rūgšties augalų mitochondrijose. Prolinas yra osmolitas ir atlieka kaupimo funkciją (anglies ir azoto šaltinis). Taip pat ši aminorūgštis yra labai svarbi augalo apsaugos mechanizmui nuo reaktyvaus deguonies, kuris susidaro sausrų metu ir esant intensyviai apšvietimui. Prolinas osmosinio streso metu stabdo baltymų denatūraciją, taip apsaugomas fermentų aktyvumas [18].

$\beta$ -Aminorūgštys nėra taip paplitusios kaip  $\alpha$ -aminorūgštys, tačiau jos yra labai svarbios, nes aptinkamos natūraliai susidarančiuose medžiagose – peptiduose, glikopeptiduose, alkaloiduose. Todėl junginiai, turintys  $\beta$ -aminorūgšties fragmentą pasižymi biologiniu aktyvumu. Jie turi antimikrobinių, priešvėžinių savybių, dėl to gali būti naudojami farmacijos pramonėje [19].

### 1.4 Augalų metabolitai

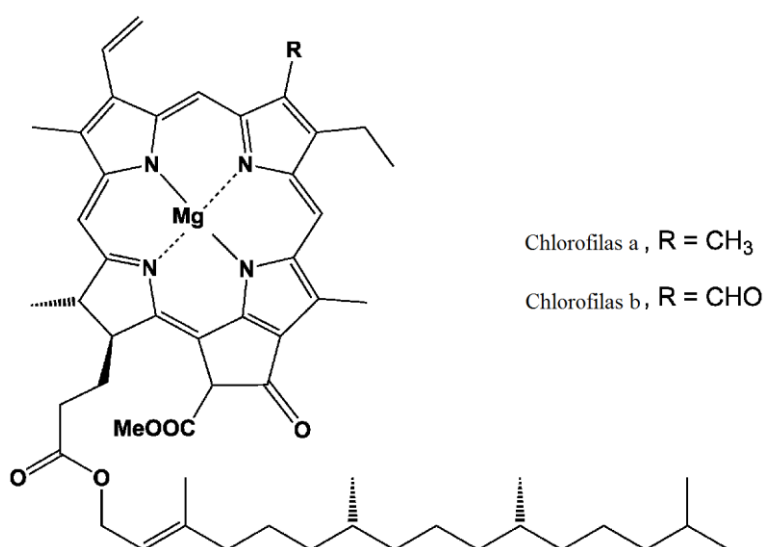
Augalų metabolitai – tai organiniai junginiai, kurie natūraliai susidaro augalų ląstelėse, audiniuose ir organuose, kaip medžiagų apykaitos produktai. Jie skirstomi į pirminius ir antrinius.

Pirminiais vadinami tie, kurie yra gyvybiškai būtini augalams. Tai – aminorūgštys, baltymai, riebalai, nukleorūgštys, sacharidai, chlorofilas, karotinoidai. Antriniais metabolitais vadinami tokie junginiai, kurie padeda augalams prisitaikyti ir išgyventi, apsaugoti nuo žalingų aplinkos veiksnių. Vieni iš tokių yra gliukozinolatai, alkaloidai, flavonoidai, kumarinai, saponinai [20].

### 1.4.1 Chlorofilas ir karotinoidai

Chlorofilas yra vienas iš pigmentų, dalyvaujančių fotosintezės procese. Jis absorbuoja šviesos kvantus, kurių energija vėliau paverčiama į cheminę energiją bei naudojama anglies dioksidui asimiliuoti. Augaluose chlorofilo kiekis nėra pastovus visos vegetacijos metu, todėl tai parodo augalo fiziologinį aktyvumą [10].

Chlorofilo struktūros pagrindas – porfirino žiedas, kurio centre koordinaciniais ir kovalentiniais ryšiais prisijungęs magnio atomas. Pagrindiniai šio pigmento tipai yra du: chlorofilas *a* ir chlorofilas *b*. Jie skiriasi labai nedaug, tik šoninės grandinės sudėtimi (1.7 pav.) ir spalva. Chlorofilas *a* yra mėlynai žalias, o chlorofilas *b* – geltonai žalias [21].



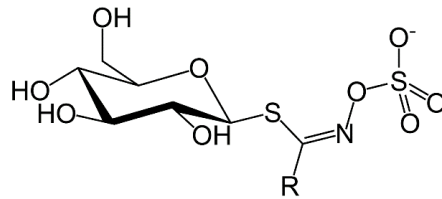
1.7 pav. Chlorofilo *a* ir *b* struktūra

Karotinoidai – tai kita fotosintezės pigmentų grupė. Juos sintetina augalai ir kai kurie mikroorganizmai. Šie pigmentai yra antioksidantai, nes apsaugo ląsteles nuo šviesos oksidacinio pažeidimo. Taip pat karotinoidai suteikia daržovėms, vaisiams, gėlių žiedams geltoną, oranžinę ir raudoną spalvas [22].

### 1.4.2 Gliukozinolatai ir mirozinazė

Gliukozinolatai – tai gamtoje randamų medžiagų grupė, kurią sudaro daugiau nei 120 skirtingos cheminės sudėties junginių. Gliukozinolatai hidrolizuojami mirozinazės skyla į biologiškai aktyvius junginius. Daugiausiai rapsuose randama gliukonapino, progoitrino, napoleiferino, gliukobrasikanapino ir 4-hidroksibrasicino. Šie junginiai sutrikdo skydliaukės darbą. Todėl rapsuose, skirtuose maistiniam aliejui ir pašarams, gliukozinolatų kiekis yra ribojamas [23].

Visų gliukozinolatų struktūra susideda iš  $\beta$ -D-tiogliukozės grupės, kuri susijungusi su sulfoninta oksimo dalimi, ir šoninės grandinės R (1.8 pav.).

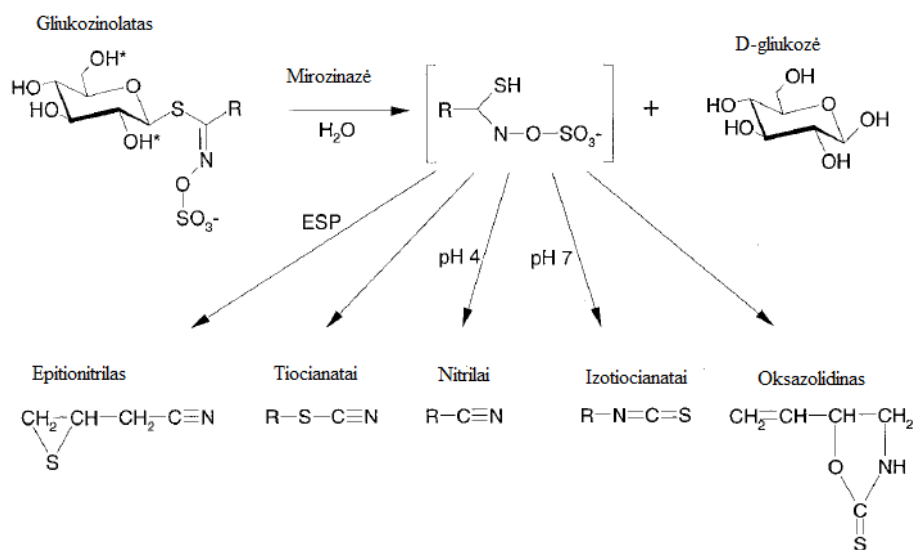


1.8 pav. Bendroji gliukozinolatų struktūra

R grupė sudaryta iš aminorūgščių ir yra kintama. Ji gali būti aromatinė, heterociklinė ar alifatinė. Todėl ir gliukozinolatai yra skirstomi į tris grupes: aromatiniai, indoliniai arba alifatiniai. Pagrindinės aminorūgštys, iš kurių yra sintetinami gliukozinolatai, yra alaninas, valinas, leucinas, isoleucinas, metioninas, tirozinas, fenilalaninas ir triptofanas [24].

Patys pavojingiausi gyvūnams ir žmonėms yra alifatiniai. Kitos dvi grupės, manoma, turi antivėžinių savybių, aktyvina kai kurių fermentų veiklą ir gerina apetitą. [23]

Gliukozinolatai yra hidrolizuojami fermento tiogliukozidazės, kitaip mirozinazės. Augaluose jie yra skirtinguose audiniuose: mirozinazė yra indioblastuose, o gliukozinolatai – vakuolėse. Kai augalas yra pažeidžiamas mirozinazė išsilaisvina ir hidrolizuoja gliukozinolatus. Jie skyla į D-gliukozę ir agliukonus (1.9 pav.). Agliukonas, priklausomai nuo gliukozinolato ir fermentinės reakcijos sąlygų, spontaniškai persitvarko į tiociantą, izotiociantą, nitrilą, epitionitrilą arba oksazolidiną [24]. Būtent šie hidrolizės metu susidarę junginiai turi biologinį aktyvumą.



1.9 pav. Mirozinazės hidrolizės reakcija



## 1.5 Rapsai (*Brassica napus* L.)

Rapsai auginami visame pasaulyje ir yra vieni iš svarbiausių augalų, naudojamų techniniam ir maistiniam aliejui gaminti, gyvulių pašarui ruošti. Gebėjimas augti žemoje temperatūroje nulėmė jų paplitimą vidutinio klimato zonoje [24]. Žinoma, kad jis buvo augintas dar 4 tūkst. m. pr. m. e. Indijoje. Po to paplito Azijoje ir Europoje [25]. Rapsai (*Brassica napus* var. *Oleifera* DC) priklauso *Brassica* L. genčiai ir bastutinių (*Cruciferae* arba *Brassicaceae*) šeimai. Šie augalai yra rapsiukų (2n=20, genomai AA) ir kopūstų (2n=18, genomai CC) amfidiploidai. Rapsai yra dviejų rūšių: vasariniai (*annua*) ir žieminiai (*biennis*) [26].

Rapsai – fitosanitariniai augalai. Jie yra geras priešsėlis javams, miežiams ir kitiems grūdiniams augalams. Dėl ilgų šaknų rapsai sugeba iš gilesnių dirvožemio sluoksnių įsisavinti medžiagas, kurias vėliau gali pasisavinti po jų augantys augalai. Be to, rapsų šaknys išskiria fitoncidus, kurie slopina cercosporeliozės ir ofiobolozės (t.y. kviečių pašaknio ligos) vystymąsi [27]. Taip pat šie augalai supurena žemę, pagerina sąlygas aeracijai ir mikroorganizmų veiklai [28].

Žieminiai rapsai mėgsta šviesą ir ilgą dieną. Kai oro temperatūra yra apie 1 °C, jų sėklos pradeda dygti. Tačiau geriausios oro sąlygos yra esant 13–15 °C temperatūrai. Jeigu dirvoje pakanka drėgmės, o sėklos įterptos 1,5–3,0 cm gylyje, daigai pasirodo po 4–6 dienų. Pasėjus per giliai arba sausoje dirvoje sėklos sudygs tik po 10–20 dienų.

Šiltėjantis klimatas bei Europos Sąjungos draudimas pesticiduose naudoti neonikotinoidų veikliąsias medžiagas nulėmė vasarinių rapsų auginamų plotų sumažėjimą. Per trejus metus plotas sumažėjo 3 kartus (nuo 145 tūkst. ha iki 41 tūkst. ha). Todėl svarbu didinti žieminių rapsų derlingumą, nes jų auginimo plotai bus plečiami. Prieš metus, 2015 m., buvo deklaruota 123 tūkst. ha žieminių rapsų, kai vasarinių – tik 43 tūkst. ha. [29, 30].

### 1.5.1 Žieminių rapsų veislės

Žieminių rapsų veislės tinkamiausios auginti Lietuvoje yra „Accord“, „Apex“, „Casin“, „Valesca“, „Orkan“, „Silvia“, „Amber“, „Libea“, „Alasla“, „Attila“, „Libea“ ir „Kasimir F<sub>b</sub>“. Visos išvestos Švedijoje bei Vokietijoje, kur panašios oro sąlygos į mūsų šalies [31].

Galima išskirti dvi veislių kūrimo kryptis: maistui bei pašarams ir technikos reikmėms. Daugiausia yra auginamos 00-tipo rapsų veislės, nes dėl cheminės sudėties sėklos tinkamiausios maistiniam aliejui ir pašarų gamybai. Jose turi būti kuo mažiau eruko rūgštis ir gliukozinolatų, o

aliejaus ir baltymų – kuo daugiau. Kitų tipų veislės tinkamos tik techninėms reikmėms. Rapsų sėklų kokybės rodikliai, pateikti 1.1 lentelėje [27, 28].

**1.1 lentelė.** Reikalavimai rapsų sėkloms, kurios skirtos perdirbti į maistinį aliejų [27, 32].

Rodiklio pavadinimas	Norma
Drėgnis ir lakios medžiagos – ne daugiau kaip, %	8,5
Eruko rūgštis – ne daugiau kaip, %	2
Gliukozinolatai sausose sėklose – ne daugiau kaip, $\mu\text{mol/g}$	20
Chlorofilai – ne daugiau kaip, mg/kg	30
Sinapias, g/kg	4–9
Taninai ir fenolio rūgštys, g/kg	2–3
Aliejaus kiekis sausose sėklose – ne mažiau kaip%	42
Baltymai sausose sėklose – ne mažiau kaip %	38

### 1.5.2 Rapsų ligos

Kiekvienais metais rapsų derlius yra nevienodas ir jo dydis priklauso nuo daugybės priežasčių. Vienas iš svarbiausių derliaus kiekį lemiančių veiksnių yra įvairios ligos. Jos kiekvienais metais plinta vis greičiau [33]. Tai vyksta dėl šių priežasčių:

- didėjančių rapsų pasėlių plotų;
- kritulių kiekio ir jų dažnumo;
- klimato atšilimo (dėl ilgo ir šilto rudens);
- taikomų agrotechninių priemonių (žemės dirbimo, pasėlių priežiūros ir pan.) [34].

Rapsai gali būti pažeisti neinfekcinių ir infekcinių ligų. Pastarąsias sukelia virusai, bakterijos, mikoplazmos ar įvairūs grybai. Labiausiai paplitę grybinės rapsų ligos, o iš jų svarbiausios pateiktos 1.2 lentelėje. [28].

**1.2 lentelė.** Svarbiausių rapsų grybinių ligų charakteristika

Liga	Lotyniškas ū	Požymiai	Žalingumas
Juodoji dėmėtligė (alternariozė)	<i>Alternaria</i> <i>Brassicae, A.</i> <i>brassicicola</i>	Juodos ar pilkos dėmės ant lapų, stiebų, ankštaraų ir sėklų.	Liga plačiai paplitusi. Ligotos ankštarnos bręsta anksčiau laiko, susproginėja.

Fomozė	<i>Phoma lingam</i>	Stiebo apatinėje dalyje formuojasi pilkos dėmės su smulkiais juodais taškeliais.	Augalai bręsta anksčiau, sėklos užauga smulkios ir raukšlėtos.
Baltasis (sklerotinis) puvinys	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Ant stiebo, ankštarių ar šoninių šaknų susidaro baltos dėmės su balta vatos pavidalo grybiena.	Augalai subręsta anksčiau, sėklos susmulkėja arba visai neužauga.

Neseniai intensyviai pradėjo plisti kita liga – verticiliozė. Ji daugiausia randama vėsesnio klimato šalyse. Dėl šios ligos rapsų sėklų nuostoliai gali siekti iki 50 proc., be to, cheminė apsauga nėra veiksminga. Pagrindinis verticiliozės sukėlėjas – mikromicetai, kurie plinta per dirvą ir turi platų augalų (šeimininkų) pasirinkimą [34].

Tam tikri grybeliai ir bakterijos užkrečia augalus, siekdami panaudoti jų išteklius savo mitybai. Tai dažnai sukelia augalų ligas, todėl šie mikroorganizmai vadinami patogenais. Tam, kad veiksmingai užkrėstų augalą, šie patogeniniai mikrobai gamina agresyvias medžiagas, pavyzdžiui, fermentus (puola ląstelių sienelės) arba toksinus (pažeidžia augalą) [12].

Kultūriniuose augaluose, taip pat ir rapsuose, yra daug patogeninių bakterijų, bet agresyviausios ir labiausiai paplitusios šios:

- *Pseudomonas syringae pathovars* (sukelia pomidorų ligas, kaštonų nekrozę);
- *Ralstonia solanacearum* (plinta dirvožemiu, augalus užkrečia per žaizdas, šaknų įtrūkimus);
- *Agrobacterium tumefaciens* (sukelia neoplastines išaugas);
- *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (sukelia bakterinį lapų amarą);
- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (sukelia juodąjį puvinį);
- *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* (sukelia bakterinį amarą);
- *Erwinia amylovora* (sukelia bakterinę deglikę) [35].

Patogeninę bakteriją *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* galima išskirti, kaip vieną labiausiai kenkiančią rapsų pasėliams. kryžmažiedžiams augalams šis patogenas sukelia bakterinį juodąjį puvinį [36]. Ypač šia liga žieminiai rapsai serga, jeigu žiemą nebūna sniego ir labai svyruoja temperatūra [37].

## **1.6 Rapsų derliaus didinimas**

Siekiant gero rapsų derliaus reikalingi dideli maistinių medžiagų kiekiai. Ypač rapsams svarbu gauti pakankamai azoto ir sieros, nes šie elementai dalyvauja aminorūgščių ir baltymų sintezėje [38]. Jeigu dirvoje trūksta azoto žieminiai rapsai tampa šviesiai žali, o vėliau pagelsta. Tokie lapai nudžiūsta, o augalo stiebas tampa raudonas ir menkas. Todėl azoto trūkumą svarbu pašalinti, tręšiant šio elemento turinčiomis trąšomis [27]. Labai svarbi rapsams ir siera, nes jiems jos reikia tris kartus daugiau nei kitiems pasėliams. Šio elemento rapsams reikia ne tik baltymų ir amino rūgščių, bet ir gliukozinolatų sintezei [24].

Šiuo metu tręšimui daugiausiai naudojamos neorganinės trąšos, turinčios azoto ir sieros. Tačiau vien jų nepakanka. Siekiant padidinti rapsų produktyvumą galima panaudoti:

- organinių atliekų trąšas ( aminorūgštys);
- sintetinius augimo reguliatorius.

Tinkamai panaudojus trąšas galima ne tik užauginti didesnę derlių, bet ir padidinti augalų baltymingumą, pakeisti aminorūgščių kiekius.

Tai padėtų ne tik sumažinti neorganinių trąšų naudojimą, bet ir leistų efektyviai panaudoti organines atliekas [39].

### **1.6.1 Aminorūgštys žemės ūkyje**

Neorganinės trąšos yra vienas svarbiausių veiksnių, padedančių padidinti augalų derlių. Tačiau didelis neorganinių trąšų panaudojimas daro neigiamą įtaką aplinkai.[40] Dideli nitratų kiekiai teršia dirvožemį, vandenį ir orą bei kenkia gyvūnų ir žmonių sveikatai [39].

Aminorūgštys gali būti gera alternatyva neorganinėms azoto trąšoms. Manoma, kad augalai įsisavina aminorūgštis, todėl jos yra tinkamos naudoti tręšimui [41]. Geras aminorūgščių šaltinis yra organinės atliekos, kurių yra daugelyje pramonės šakų. Atliekami tyrimai su gyvūnų ir augalų organinėmis atliekomis, siekiant juos pritaikyti žemės ūkyje. Tai padėtų ne tik sumažinti neorganinių trąšų naudojimą, bet ir leistų efektyviai panaudoti organines atliekas [39].

## 2. METODINĖ DALIS

Tyrimai buvo atlikti Kauno technologijos universiteto, Cheminės technologijos fakulteto, Organinės chemijos katedros biotechnologijos laboratorijoje.

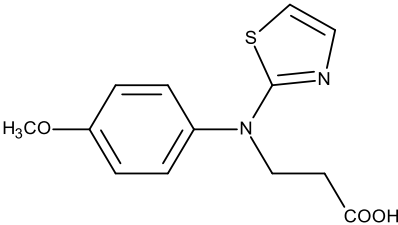
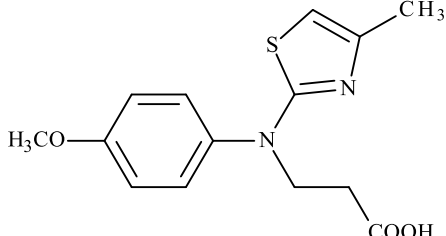
Tyrimams naudotos žieminių rapsų (*Brassica napus* L.) „Abakus” sėklos. Tai hibridinė veislė sukurta Vokietijoje. Sėklos smulkios, vidutinio riebalingumo, labai baltymingos. Šie rapsai pasižymi aukštu derlingumu, atsparumu žemoms temperatūroms ir išgulimui.

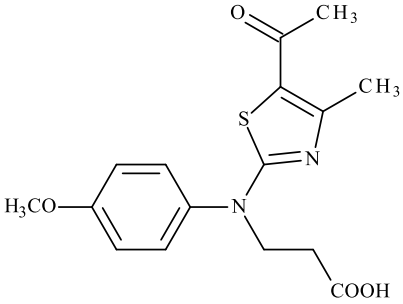
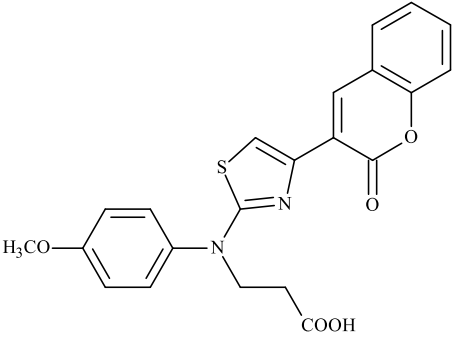
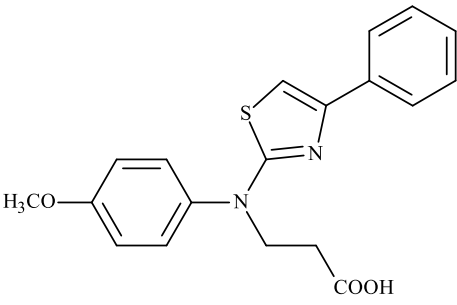
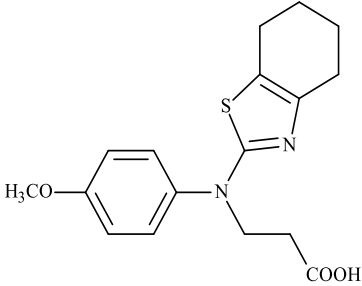
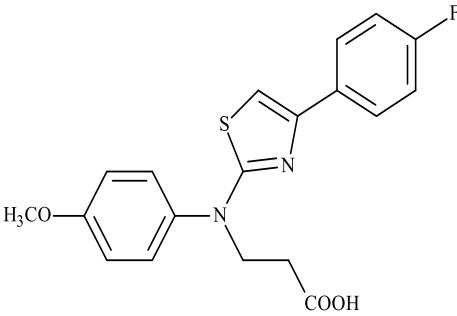
Tyrimė naudoti L-cisteinas, L-cistinas, L-tirozinas, L-fenilalaninas ir L-hidroksiprolinas. Taip pat tirti N,N-pakeisti-β-alanino junginiai su azolo fragmentais, kurie buvo susintetinti Kauno technologijos universiteto, Cheminės technologijos fakulteto Organinės chemijos katedroje, prof. V. Mickevičiaus mokslinėje grupėje.. Iš viso tirti 28 nauji junginiai buvo suskirstyti į tris grupes:

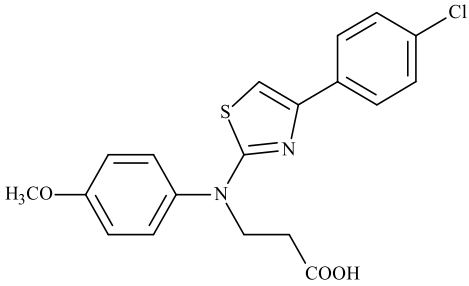
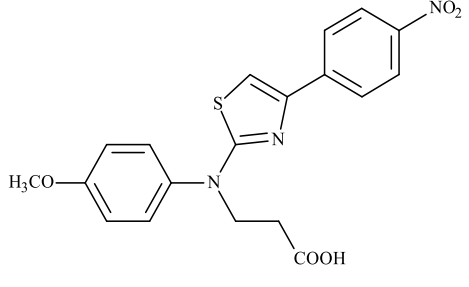
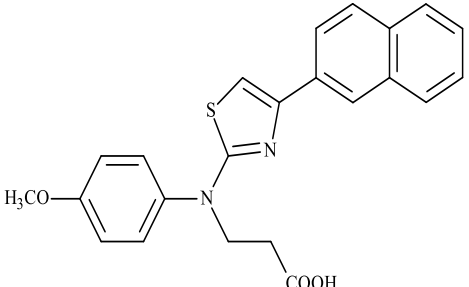
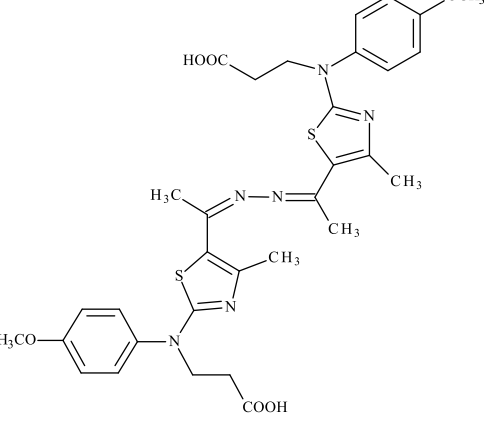
1. N,N-pakeisti-β-alaninai su tiazolo fragmentu (2.1 lentelė),
2. N,N-pakeisti-β-alaninai su tiazolono fragmentu (2.2 lentelė),
3. N,N-pakeisti-β-alaninai su tiazolo ir chalkono fragmentais (2.3 lentelė).

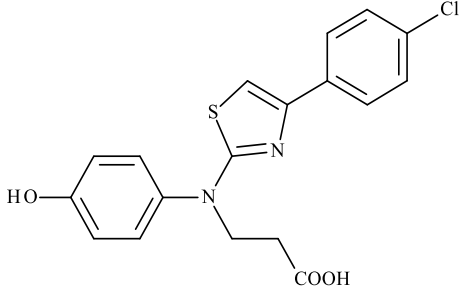
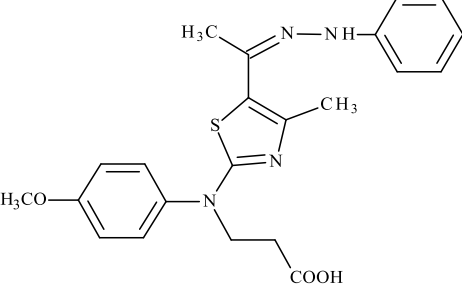
Buvo tikimasi, kad šie junginiai galėtų pasižymėti antioksidaciniu, antibakteriniu aktyvumu ar veikti kaip augimo reguliatoriai.

**2.1 lentelė.** N,N-pakeisti-β-alanino junginiai su tiazolo fragmentu.

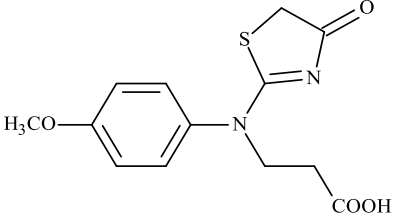
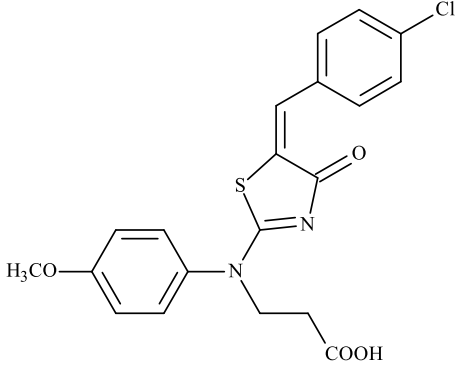
Junginys	Junginio pavadinimas	Formulė
1	<b>3-[(4-metoksifenil)(1,3-tiazol-2-il)amino]propano rūgštis</b>	
2	<b>3-[(4-metoksifenil)(4-metiltiazol-2-il)amino]propano rūgštis</b>	

3	<b>3-[(5-acetil-4-metiltiazol-2-il)(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
4	<b>3-[[4-(2-oksochromen-3-il)thiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
5	<b>3-[[4-(4-fenil)thiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
6	<b>3-[(4-metoksifenil)-(4,5,6,7-tetrahidrobenzotiazol-2-il)amino]propano rūgštis</b>	
7	<b>3-[[4-(4-fluorfenil)thiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	

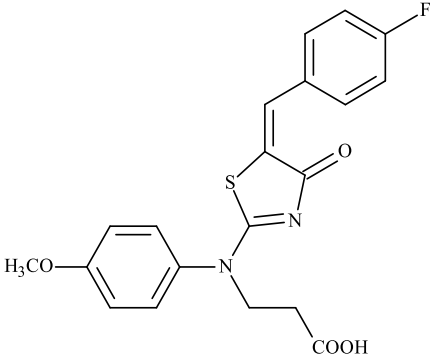
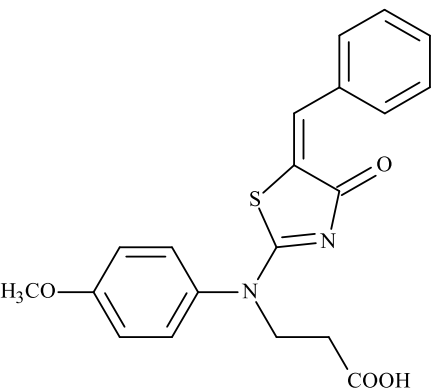
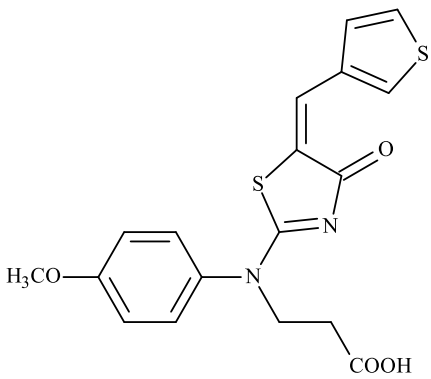
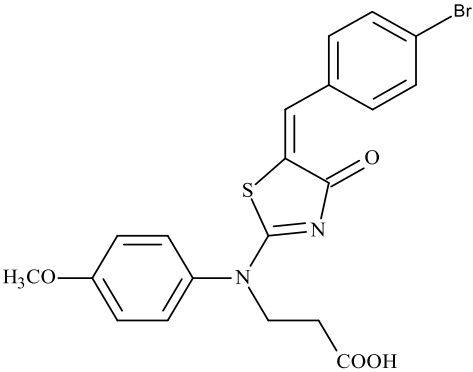
8	<b>3-[[4-(4-chlorfenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
9	<b>3-[[4-(4-nitrofenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
10	<b>3-[[4-(2-naftil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
11	<b>3-[5-{1-[(E)-2-((Z)-1{2-[(3-hidroksi-3-oksopropil)-(4-metoksifenil)amino]-4-metil-1,3-tiazol-5-il}etiliden)hidrazono}etil-4-metil-1,3-tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	

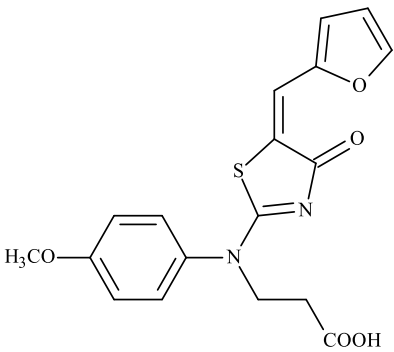
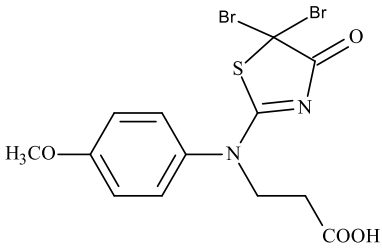
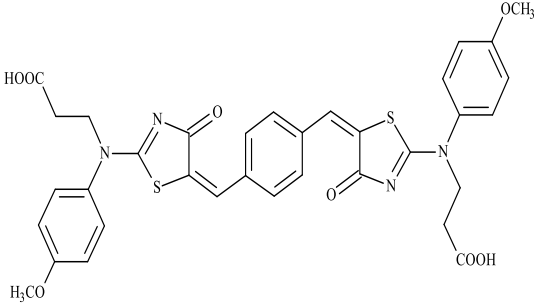
12	<b>3-[[4-(4-chlorfenil)thiazol-2-il]-(4-hidroksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
13	<b>1-[2-(4-metoksianilino)-4-metil-1,3-thiazol-5-il]-1-etanono <i>N</i>-fenilhidrazonas</b>	

2.2 lentelė. N,N-pakeisti-β-alanino junginiai su tiazolono fragmentu

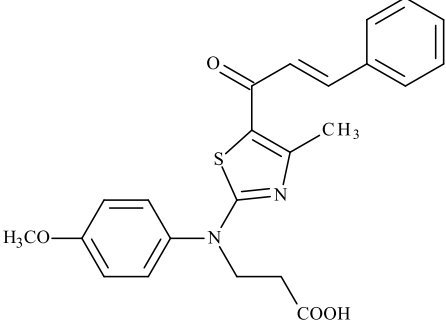
Junginys	Cheminis pavadinimas	Formulė
14	<b>3-[(4-metoksifenil)(4-okso-4,5-dihidrotiazol-2-il)amino]propano rūgštis</b>	
15	<b>3-[5-[(4-chlorfenil)metilen]-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	

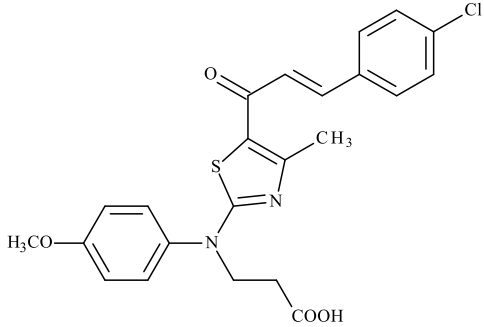
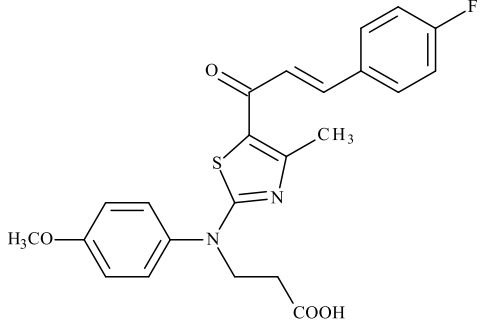
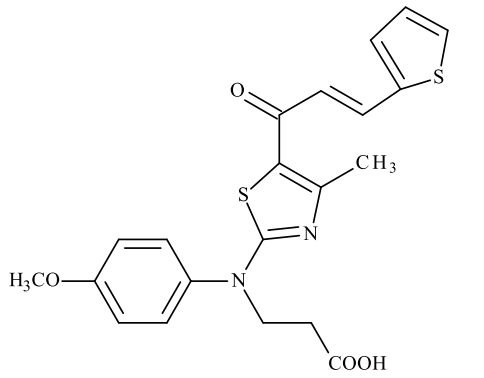
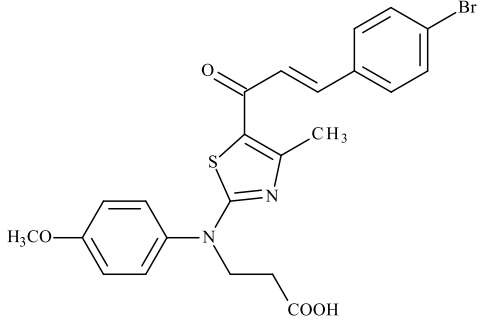
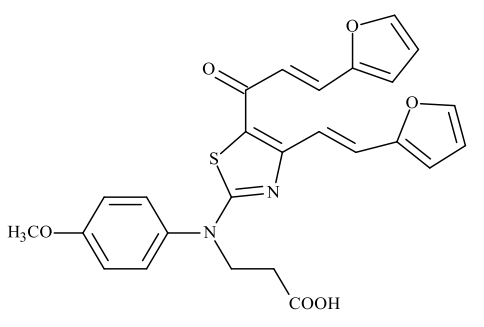


16	<b>3-[5-[(4-fluorfenil)metilen]-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino)propano rūgštis</b>	
17	<b>3-[5-[4-fenilmetilen]-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino)propano rūgštis</b>	
18	<b>3-[5-(3-tienilmetilen)-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino)propano rūgštis</b>	
19	<b>3-[5-[(4-bromfenil)metilen]-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino)propano rūgštis</b>	

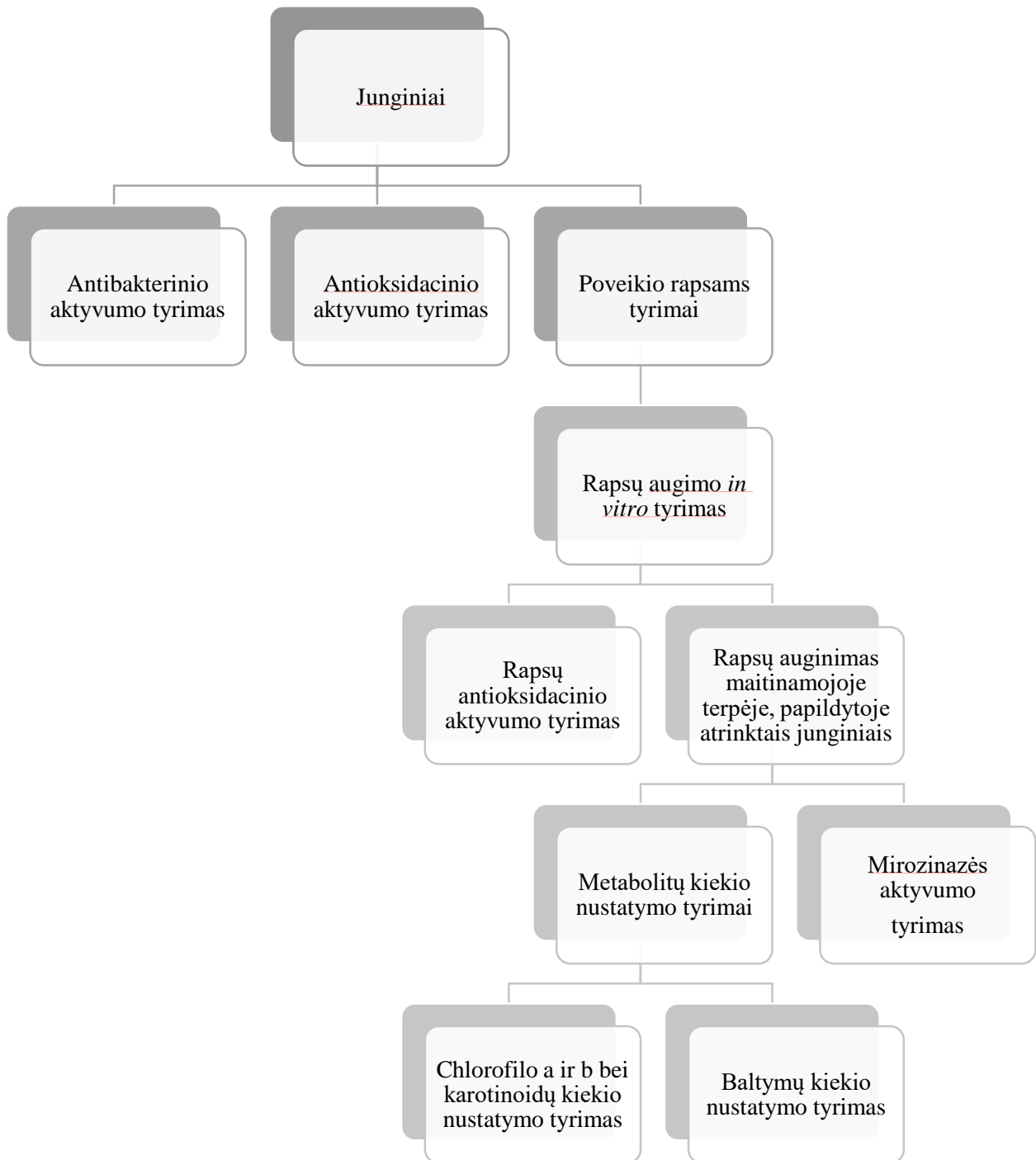
20	<b>3-[5-(2-furilmetilen)-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
21	<b>3-[(5,5-dibromo-4-okso-tiazol-2-il)-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis</b>	
22	<b>3-[[5-[(Z)-(4-{[2-[(3-hidroksi-3-oksopropil)-4-metoksianilino]-4-okso-1,3-tiazol-5(4H)-ilidene]metil}fenil)metilidene]-4-okso-1,3-tiazol-2(4H)-il]-4-metoksianilino}propano rūgštis</b>	

2.3 lentelė. N,N-pakeisti-β-alanino junginiai su tiazolo ir chalkono fragmentais

Junginiai	Cheminis pavadinimas	Formulė
23	<b>3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-fenilprop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis</b>	

24	<b>3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-chlorfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis</b>	
25	<b>3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-florfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis</b>	
26	<b>3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(2-tienil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis</b>	
27	<b>3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-bromfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis</b>	
28	<b>3-[(4-metoksifenil)-{5-[3-(2-furil)prop-2-enoil]-4-[2-(2-furil)vinil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis</b>	

N,N-pakeisti- $\beta$ -alanino junginių biologinio aktyvumo tyrimas buvo atliktas pagal žemiau pateiktą schemą.



**2.1 pav.** Atliktų tyrimų metodinė schema

Atliekant tyrimus buvo naudoti šie įrenginiai:

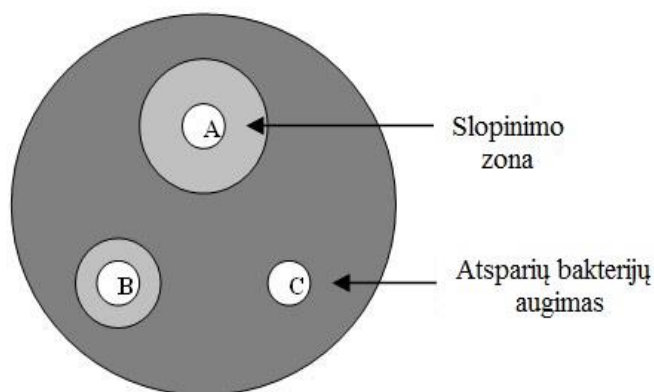
- autoklavas „Certoclav“,
- centrifuga „Universal 320R“,
- laminaras „Teostar BV-100“,
- pH-metras „Winlab“,
- spektrofotometras „UV-200RS“,
- spektrofotometras „Shimadzu UV-1280“,
- termostatas „Binder“,
- termostatinė vonelė „Biosan“,
- termostatinis kratytuvas „ES-20“.

## 2.1 Antibakterinio aktyvumo nustatymas

Antibakterinis aktyvumas buvo nustatomas agarų difuziniu metodu [42]. Tyrimams naudotos *Xanthomonas campestris* ir *Rhizobium radiobacter* bakterijos, kurios buvo augintos Luria-Bertani (LB) terpėje esant 37 °C temperatūrai. Tiriamų junginių tirpalai (konc. 1000 µg/ml) buvo ištirpinti dimetilsulfoksido (DMSO).

LB terpė yra kieta ir sudaryta iš: 10,0 g/L natrio chlorido, 10,0 g/L triptono, 5,0 g/L mielių ekstrakto ir 10,0 g/L mikroagarų.

Ant LB terpės *Petri* lėkštelėse buvo užpilta *Rhizobium radiobacter* ir *Xanthomonas campestris* bakterijų suspensijos 50 µl ir uždėti popieriniai diskai, suvilgyti 25 µl tiriamų junginių tirpalais (1mg/l). *Petri* lėkštelės sudėtos į termostatą, palaikant 37 °C temperatūrą. Po dviejų parų stebėtas bakterijų augimas ir tiriamų junginių antibakterinis poveikis. Išmatuota slopinimo zona.



2.2 pav. Antibakterinio poveikio įvertinimas

## 2.2 DPPH laisvo radikalo slopinimo tyrimas

Tiriamų junginių antioksidaciniam aktyvumui įvertinti buvo naudojamas DPPH laisvo radikalo slopinimo metodas [9]. Iš pradžių buvo paruoštas 1 mM DPPH tirpalas etanolyje, o 1 mg/ml tiriamieji junginiai ištirpinti DMSO.

Paruošto 1mM DPPH tirpalo po 1 mL įpylta į 1 mL tiriamų junginių tirpalus. Tada mišiniai sumaišyti ir palikti stovėti 20 minučių. Šviesos sugerties dydis išmatuotas, esant 517 nm bangos ilgiui. DPPH slopinimas apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{slopinimas, \%} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100 \quad (1)$$

$A_B$  – palyginamojo tirpalo absorbcijos dydis;

$A_A$  – tiriamojo tirpalo absorbcijos dydis.

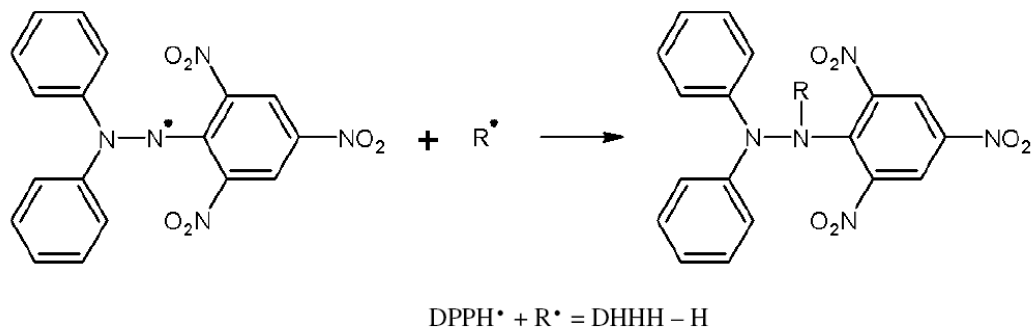
## 2.3 Rapsų daigumo *in vitro* nustatymas

Rapsų sėklos sterilintos 70 %  $C_2H_5OH$  – 3 min., 10 %  $NaClO$  tirpalu – 10 min, po to 3 kartus plautos steriliu distiliuotu vandeniu. Po to sėklos daigintos stiklinėse *petri* lėkštelėse ant sterilaus filtrinio popieriaus, sudrėkinto 2,5 mL tiriamų junginių tirpalais [43]. Iš pradžių paruošti 1mg/ml tirpalai, ištirpinti DMSO. Tada praskieti vandeniu iki 2mg/l.

Kiekvienoje lėkštelėje daiginta dešimt sėklų. Rapsų daigumas nustatytas po 14 dienų. Išmatuotas daigų stiebų aukštis ir šaknų ilgis. Kontrolei rapsai daiginti steriliame distiliuotame vandenyje.

## 2.4 Augalų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo tyrimas

Augalų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas įvertintas matuojant, kiek procentų stabilus DPPH radikalo neutralizuoja fenoliniai junginiai [44].



2.3 pav. Radikalo DPPH redukcijos reakcija su antioksidantu

Fenoliniams junginiams būdingas antioksidacinis aktyvumas dėl jų gebėjimo išaktyvinti laisvuosius radikalus. Reakcijos metu (2.3 pav.) antioksidantas atiduoda vandenilį ir taip išaktyvina laisvuosius radikalus ir jie tampa stabiliais DHHP – H tipo junginiais.

1 g susmulkintos augalinės žaliavos užpilta 10 ml metanoliu ir homogenizuota 10 minučių. Homogenatas centrifuguotas 10 minučių 9000 aps./min, po to supernatantas surinktas.

Tiriamasis tirpalas paruoštas į mėgintuvėlį įpilant 0,077 ml paruošto ekstrakto ir 3 ml DPPH etaloninio tirpalo.

Mėgintuvėlio turinys sumaišytas ir po 15 minučių laikymo tamsoje išmatuotas tirpalo optinis tankis prie 515 nm bangos ilgio.

Palyginamasis tirpalas paruoštas į mėgintuvėlį įpilant 0,077 ml metanolio ir 3 ml DPPH etaloninio tirpalo.

Etaloninis DPPH tirpalas paruoštas 0,0024 g DPPH radikalo tirpinant metanolyje 100 ml talpos matavimo kolboje. DPPH slopinimas apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{slopinimas, \%} = [(A_B - A_A)A_B] \times 100 \quad (1)$$

$A_B$  – palyginamojo tirpalo absorbcijos dydis.

$A_A$  – tiriamojo tirpalo absorbcijos dydis.

## 2.5 Maitinamosios terpės paruošimas

Rapsai buvo daiginti Murashige-Skoog (MS) terpėje, papildytoje atrinktais junginiais [43], kurie daiginant rapsus ant filtrinio popieriaus skatino šaknų formavimąsi labiau už kontrolę. Naudota tirpalų koncentracija – 2mg/l.

Kultivuojant augalų augimą *in vitro* maitinamoji terpė sudaroma iš šių komponentų: makroelementai, mikroelementai, geležies šaltinis, organiniai priedai, anglies šaltinis, augimo reguliatoriai. Murashige & Skoog (MS) terpė – tai viena iš plačiausiai naudojamų maitinamųjų terpių. Svarbus šios terpės bruožas yra aukštos nitrato, kalio ir amonio jonų koncentracijos. Į jos sudėtį įeina mioinozitolis, nikotininė rūgštis, piridoksino hidrochloridas ( $B_6$ ) ir tiamino hidrochloridas ( $B_1$ ).

Eksperimento metu naudojama MS terpė, kurios pH = 5,7–5,8. Terpė, papildyta tiriamų junginių tirpalais, sterilinta autoklave 120 °C temperatūroje 15 minučių esant 0,75 – 1 atmosferos slėgiui.

## 2.4 lentelė. Maitinamosios MS terpės sudėtis

Reagentai	Koncentracija tirpale mg/l	Koncentracija terpėje
Makroelementai		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	33000	1650
KNO <sub>3</sub>	38000	1900
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	8800	440
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	7400	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3400	170
Mikroelementai		
KJ	166	0,83
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1240	6,2
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	4460	22,3
ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1720	8,6
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	50	0,25
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	5	0,025
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	5	0,025
Geležies šaltinis <sup>c</sup>		
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	5560	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA · 2H <sub>2</sub> O	7460	37,3
Organiniai priedai <sup>c</sup>		
Mioinozitolis	20000	100
Nikotino rūgštis	100	0,5
Piridoksinas-HCl	100	0,5
Tiaminas-HCl	100	0,5
Glicinas	400	2
Sacharozė		30000
Agar-agaras		5

## 2.6 Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų nustatymas augaluose

Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų nustatymas augalų audiniuose paremtas optinio tankio matavimu spektrofotometru esant bangos ilgiams: chlorofilui *a* (662 nm), chlorofilui *b* (644 nm), karotinoidams (441 nm) [45].

Chlorofilo *a* ir *b* kiekio nustatymui 1 g augalų lapų susmulkinti grūstuvėje. Po to įpilta 20 ml 50 % etanolio, sumaišyta iki vientisos masės ir filtruota. Nufiltruoto ekstrakto tūris išmatuotas cilindru. Vėliau ekstraktai skiesti etanolio, kol optinis tankis praskiestų tirpalų buvo nuo 0,1 iki 0,8. Tada atlikti matavimai spektrofotometru esant 662 nm (chlorofilo *a*), 644 nm (chlorofilo *b*) ir 441 nm (karotinoidams) bangų ilgiams.

Pigmentų koncentracijos (mg l<sup>-1</sup>) apskaičiuota pagal formules:

Chlorofilo *a* koncentracija (mg l<sup>-1</sup>):

$$C_a = 9,784 D_{662} - 0,99D_{644}; \quad (2)$$



Chlorofilo *b* koncentracija (mg l<sup>-1</sup>):

$$C_b = 21,426D_{644} - 4,65D_{662}; \quad (3)$$

Bendra chlorofilo ar ir *b* koncentracija:

$$C_a + C_b = 5,134D_{662} + 20,436D_{644}; \quad (4)$$

Karotinoidų koncentracija (mg l<sup>-1</sup>)

$$C_{\text{karotinoidai}} = 4,695D_{441} - 0,268(C_a + C_b); \quad (5)$$

Pigmentų kiekis mg/100g apskaičiuotas:

$$X = \frac{C \cdot V \cdot V_2 \cdot 100}{n \cdot V_1 \cdot 1000} \quad (6)$$

Čia:

*C* – pigmentų koncentracija, mg l<sup>-1</sup>;

*V* – pradinis ekstrakto tūris, ml;

*V*<sub>1</sub> – pradinis ekstrakto tūris, ml, paimtas praskiedimui;

*V*<sub>2</sub> – praskiesto ekstrakto tūris, ml;

*n* – augalinė masė g;

*X* – pigmentų kiekis, mg/100g.

## 2.7 Baltymų kiekio nustatymas rapsuose

Baltymų kiekio nustatymui remtasi Bradfordo metodu [46]. Jis pagrįstas specifine baltymų sąveika su Kumasi briliantiniu mėliu ir susidariusio komplekso koncentracijos matavimu spektrofotometru esant 595 nm bangos ilgiui. Baltymų koncentracija apskaičiuojama iš kalibracinės kreivės.

Kalibravimo kreivei sudaryti, paruošti skirtingos koncentracijos tirpalai (0,02 mg/ml, 0,04 mg/ml, 0,06 mg/ml, 0,08 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,8 mg/ml) iš standartinio albumino tirpalo (1 mg/mL). Kiekvienos koncentracijos albumino tirpalų paimta 100 μl ir įpilta 1,5 ml Bradfordo reagento (Kumasi mėlis etanolyje ir fosforo rūgštis). Mėginiai sumaišyti ir išmatuotas optinis tankis prie 595 nm bangos ilgio. Iš gautų duomenų nubraižyta kalibracinė kreivė.

Augalinė medžiaga išdžiovinta, pasverta po 0,05 g ir panaudojant buferius išekstrahuoti baltymai. Augalinė medžiaga užpilta buferiais po 1 ml ir maišyta vieną valandą. Po to nucentrifuguota 9000 aps./min greičiu 20 minučių 4 °C temperatūroje. Po centrifugavimo paimta

100 µl ekstrakto ir pridėta Bradfordo reagento (1,5 ml). Po 15–20 minučių išmatuotas optinis tankis esant 595 nm bangos ilgiui.

Baltymų ekstrakcijai naudoti buferiai:

- 1) 0,1 M Glicinas – HCl (pH=2,6);
- 2) 0,1 M Natrio acetatas (pH= 4,0);
- 3) 0,1 M Natrio acetatas (pH= 6,0):
- 4) 0,1 M Tris – HCl; (pH=8,0);
- 5) 0,1 M Natrio boratas (pH=10,0).

Baltymų kiekis apskaičiuojamas iš formulės:

$$X = \frac{a \cdot V \cdot 100}{n \cdot V_1}; \text{ mg/100 mg} \quad (7)$$

Čia:

a – baltymo koncentracija iš kalibravimo kreivės, mg;

V – pradinis ekstrakto tūris, ml;

V<sub>1</sub> – pradinis ekstrakto tūris, paimtas praskiedimui, ml;

n – augalinė masė, mg;

X – baltymų kiekis, mg/100mg.

## 2.8 Mirozinazės aktyvumo įvertinimas

Augalinės medžiagos 0,1 g susmulkinta ir ekstrahuota 1 ml ekstrakcijos buferyje, kurį sudaro: 10 mM Tris-HCl (pH = 8,0), 1 mM etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA), 1 % polivinilpirolidonas (PVP) ir 1 mM ditiotreitolis (DTT) [47]. Mišiniai centrifuguoti 15 minučių 10 000 aps./min 4 °C temperatūroje. Supernatantas turi fermentą mirozinazę ir kitus baltymus.

Mirozinazė nustatyta pagal gliukozę hidrolizės reakcijoje iš 2-propenilgliukozinolato (sinigrino), kuris buvo pridėtas į mirozinazės ekstraktą. Sinigrino tirpalas paruoštas 15 mg sinigrino ištirpinant 1 ml distiliuoto vandens. Mėgintuvėliai suskirstyti į reakcijos ir kontrolinius. Į reakcijos mėgintuvėlius įpilta 0,35 ml kalio fosfato buferio 33 mM (pH = 6), 0,05 ml tiriamo tirpalo ir 0,1 ml sinigrino. Kontroliniuose mėgintuvėliuose įpilama 0,35 ml kalio fosfato buferio ir 0,05 ml tiriamo tirpalo.

Visi mėgintuvėliai inkubuoti 30 minučių 37 °C temperatūroje vandens vonelėje. Mirozinazės aktyvumas išaktyvuotas 100 °C temperatūros vandens vonelėje, laikant 5 minutes. Po to į kontrolinius mėgintuvėlius įpilta 0,1 ml sinigrino tirpalo.

Tada į visus mėginius įpilta 2 ml o-toluidininio tirpalo ir įdėta į 100 °C temperatūros vandens vonelėje 8 minutėms. Tada išmatuota šviesos sugertis esan 590 nm.

Gliukozės kalibracinei kreivei sudarymui paruošti 0,5 mg/mL, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,8 mg/ml, 1,0 mg/ml D-gliukozės vandeniniai tirpalai. Tada paimta 10 ml visų skirtingų koncentracijų D-gliukozės tirpalų ir įpilta po 4 ml o-toluidininio tirpalo ir įdėta į 100 °C temperatūros vandens vonelėje 8 minutėms. Šviesos sugertis matuota esant 540 nm bangos ilgiui.

Mirozinazės aktyvumas apskaičiuotas pagal 8 formulę.

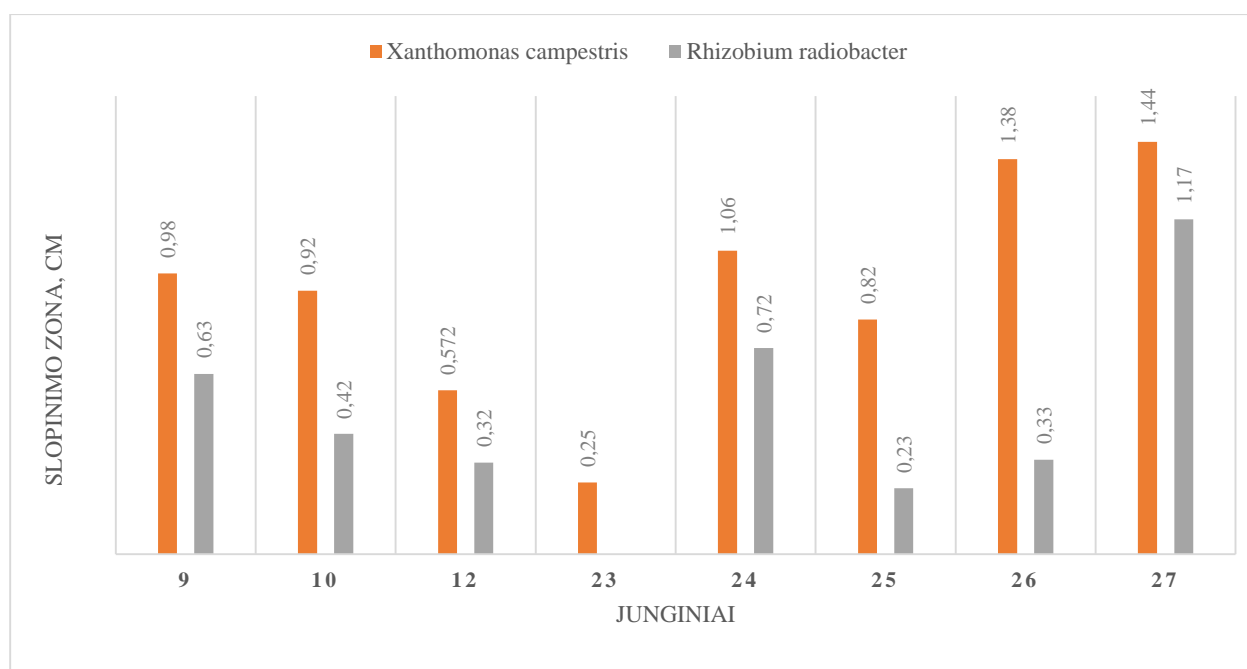
$$\left(\frac{V}{ml}\right) = \frac{\mu g(\text{gliuk}) \times \text{bendraskiktirpal}(ml)}{180,1 \times \text{enzimosnaudota}(ml) \times \text{inkubacijslaikas}(min)} \quad (8)$$

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Šiame darbe buvo tirta 28-ių N,N-pakeistų- $\beta$ -alanino junginių su azolo fragmentais antibakterinis ir antioksidacinis aktyvumas bei poveikis rapsų daigumui. Taip pat tyrime buvo naudotos penkios  $\alpha$ -aminorūgštys: L-fenilalaninas, L-cistinas, L-cisteinas, L-tirozinas, L-hidroksiprolinas.

#### 3.1 Antibakterinio aktyvumo įvertinimas

Antibakterinis poveikis buvo tirtas naudojant agarą difuzinį metodą. Tyrimui pasirinktos *Xanthomonas campestris* ir *Rhizobium radiobacter* bakterijos. Junginių koncentracija naudota tyrime – 1mg/ml. Žemiau esančioje diagramoje pateikti junginiai, rodę antibakterinį poveikį.



3.1 pav. Junginių antibakterinio aktyvumo įvertinimas

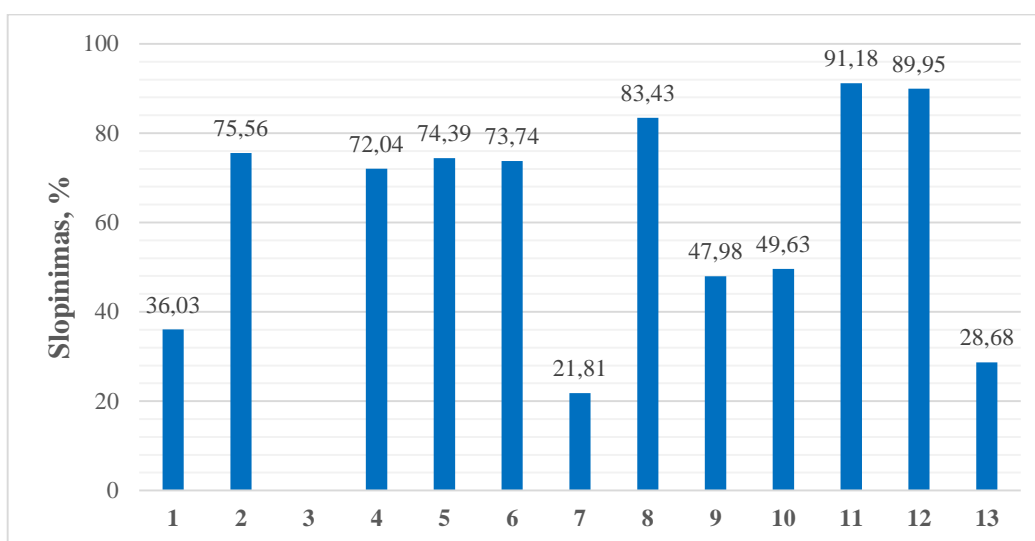
Apibendrinus rezultatus matyti, kad iš 28-nių tirtų junginių tik aštuoni turėjo antibakterinį aktyvumą. Didžiausia slopinimo zona (1,44 cm prieš *Xanthomonas campestris* ir 1,17 cm prieš *Rhizobium radiobacter*) nustatyta su **27** junginiu. Taip pat galima išskirti **26** junginį, nes jis slopino *Xanthomonas campestris* (slopinimo zona – 1,38 cm), tačiau prieš *Rhizobium radiobacter* bakteriją poveikis buvo labai mažas. Didžiausią antibakterinį aktyvumą parodė tiazolų ir chalkonų fragmentus turintys junginiai.

### 3.2 Antioksidacinio aktyvumo tyrimai

Antioksidacinės savybės buvo ištirtos DPPH radikalo slopinimo reakcija. Tirti junginiai sumaišyti su DPPH etanoliniu tirpalu ir palikti tamsoje. Po 20 minučių buvo išmatuota absorbcija esant 517 nm. Toliau aptarti šio tyrimo rezultatai.

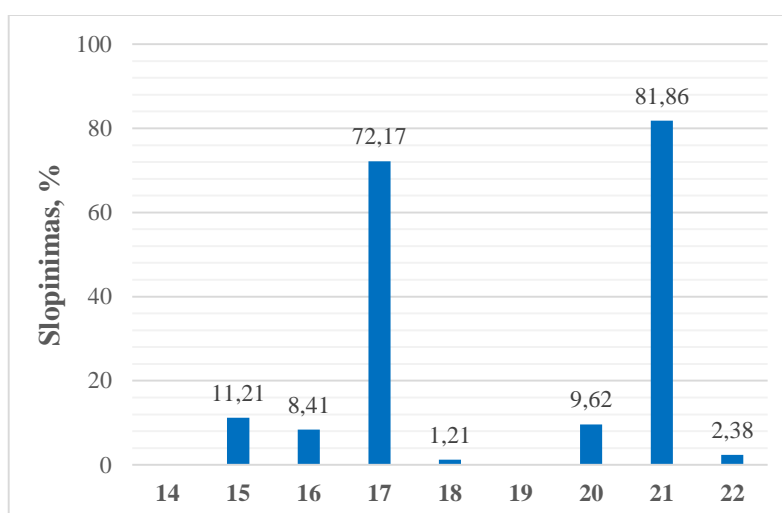
#### 3.2.1 Junginių antioksidacinio aktyvumo įvertinimas DPPH metodu

Junginių rezultatai pateikti trijose diagramose pagal grupes: tiazolai, tiazolonai ir chalkonai su tiazolo fragmentu.



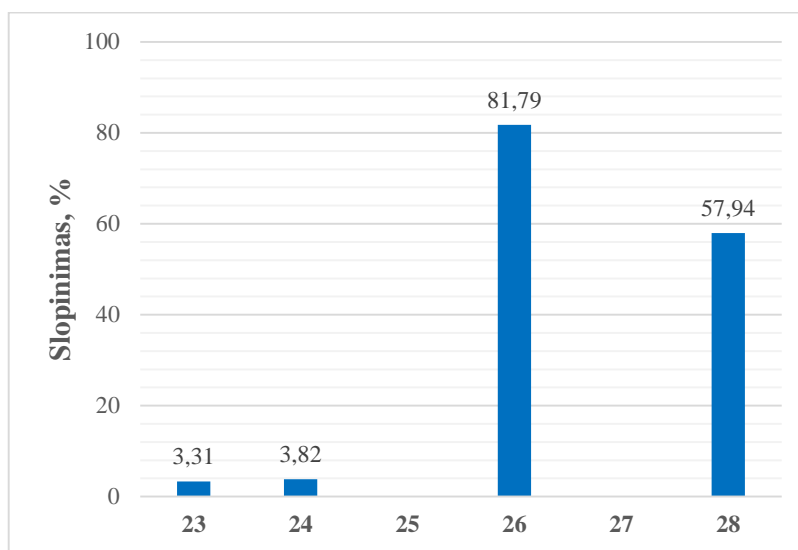
3.2 pav. Junginių su tiazolo fragmentu antioksidacinis aktyvumas

Tiazolų fragmentus turinčioje grupėje beveik visi junginiai turėjo gerą antioksidacinį aktyvumą, bet daugiausia DPPH slopino **11**, **12** ir **8** junginiai: **11** junginys – 91,18 proc., **12** – 89,95 proc., **8** – 83,43 proc. radikalo. Visiškai antioksidacinio aktyvumo neparodė **3** junginys.



3.3 pav. Junginių su tiazolonų fragmentais antioksidacinis aktyvumas

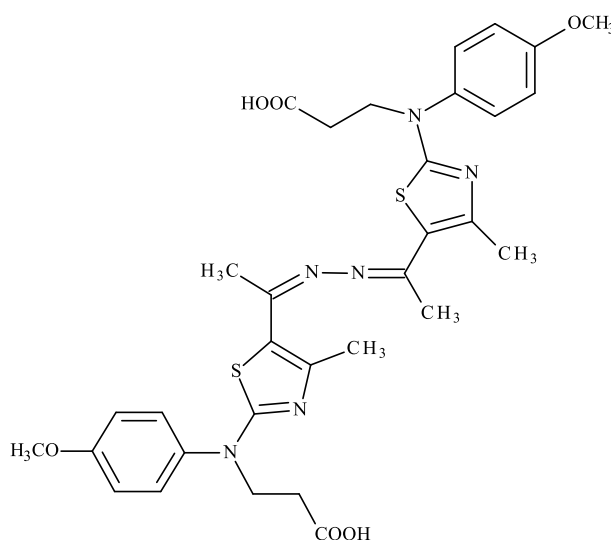
Aukščiau pateiktoje diagramoje matyti, kad iš tiazolonų fragmentus turinčių junginių geriausią antioksidacinį aktyvumą turėjo **21** ir **17** junginiai (atitinkamai 81,86 proc. ir 72,12 proc.), o kiti neslopino arba slopino labai nedaug DPPH radikalo.



**3.4 pav.** Junginių su tiazolų ir chalkonų fragmentais antioksidacinis aktyvumas

Trečioje junginių grupėje, turinčioje chalkonų ir tiazolų fragmentus, antioksidacinį aktyvumą parodė **28** ir **26** junginiai. Pastarasis neutralizavo 81,79 proc. DPPH laisvo radikalo. Šioje junginių grupėje **26** junginys buvo geriausias.

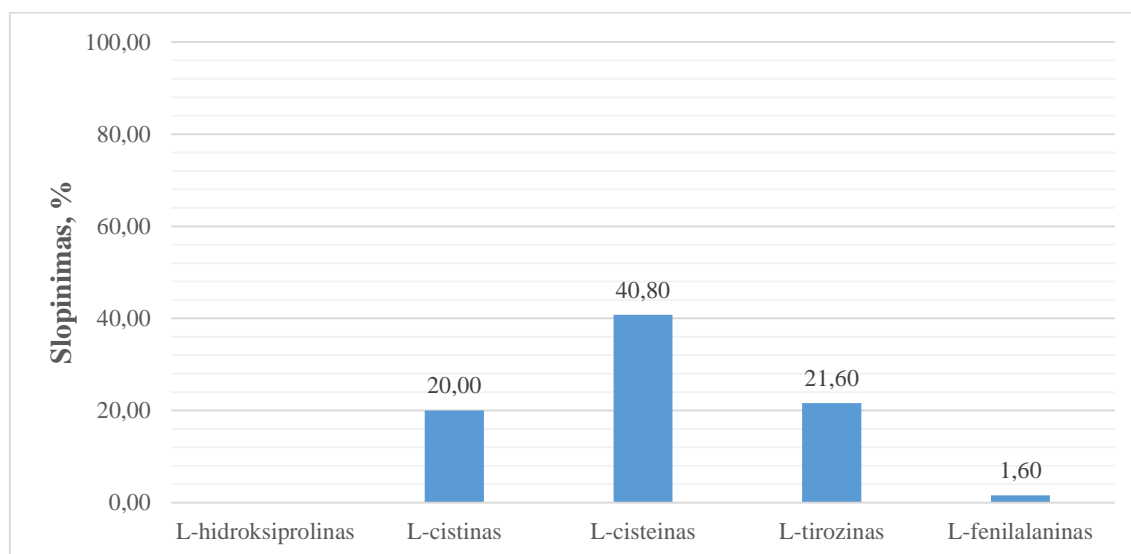
Rezultatai parodė, kad tiazolų fragmentus, turinčioje grupėje buvo daugiausiai junginių, kurie slopino daugiau nei 70 proc. radikalo, o geriausias iš visų šiame tyrime buvo **11** junginys (3.5 pav.), kuris slopino 91,18 proc. DPPH radikalo.



**3.5 pav.** Junginys **11** geriausiai slopino DPPH radikalą

### 3.2.2 Aminorūgščių antioksidacinio aktyvumo įvertinimas

Tokiu pačiu metodu kaip ir junginiai buvo ištirtos ir  $\alpha$ -aminorūgštys.



**3.6 pav.** Aminorūgščių antioksidacinis aktyvumo įvertinimas DPPH metodu

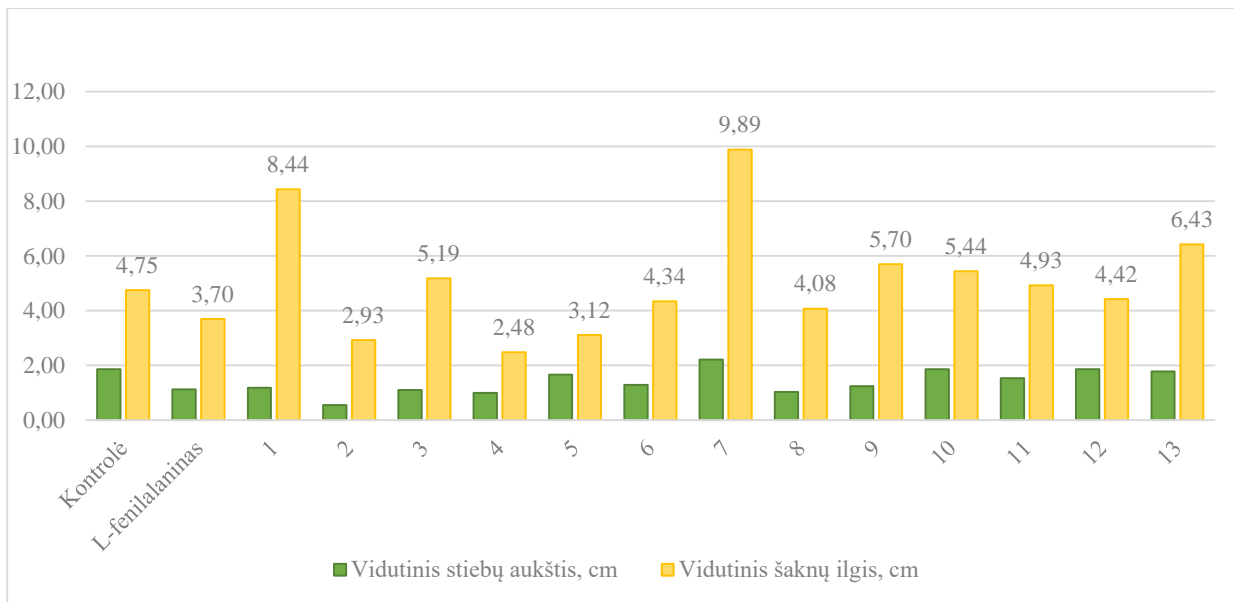
Pateiktuose duomenyse matoma, kad L-hidroksiprolinas neturėjo antioksidacinio poveikio. L-fenilalaninas taip pat neparodė didelio aktyvumo – slopino tik 1,60 proc. Kitos trys aminorūgštys, palyginus su **11** junginiu, slopino gerokai mažiau DPPH radikalo. Iš aminorūgščių, L-cisteinas slopino daugiausia (40,80 proc.) radikalo. Taigi iš rezultatų nustatyta, kad trylika junginių buvo geresni antioksidantai nei tirtos aminorūgštys.

### 3.3 Augalų augimą reguliuojančių savybių įvertinimas

Šioje darbo dalyje buvo tirtas L-tirozino, L-fenilalanino, L-hidroksiprolino, L-cisteino, L-cistino ir N,N-dipakeistų- $\beta$ -alanino junginių poveikis rapsų organogenezei. Naudotos „Abakus“ veislės rapsų sėklos.

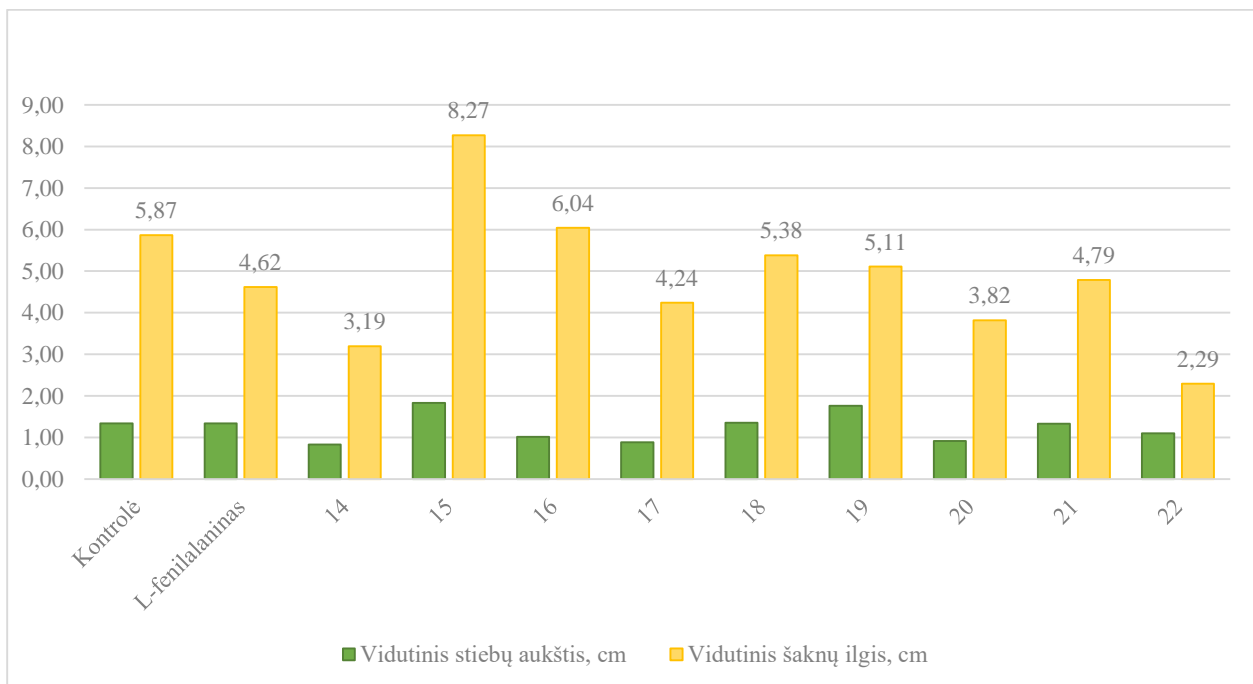
#### 3.3.1 Junginių poveikio rapsų daigumui *in vitro* įvertinimas

Tyrimo rezultatai pateikti suskirsčius junginius į tris grupes, kaip ir antioksidacinio aktyvumo įvertinime. Junginių tirpalų koncentracija tyrime – 2 mg/l.



**3.7 pav.** Junginių su tiazolų fragmentais poveikis rapsų daigų aukščiui ir šaknų ilgiui

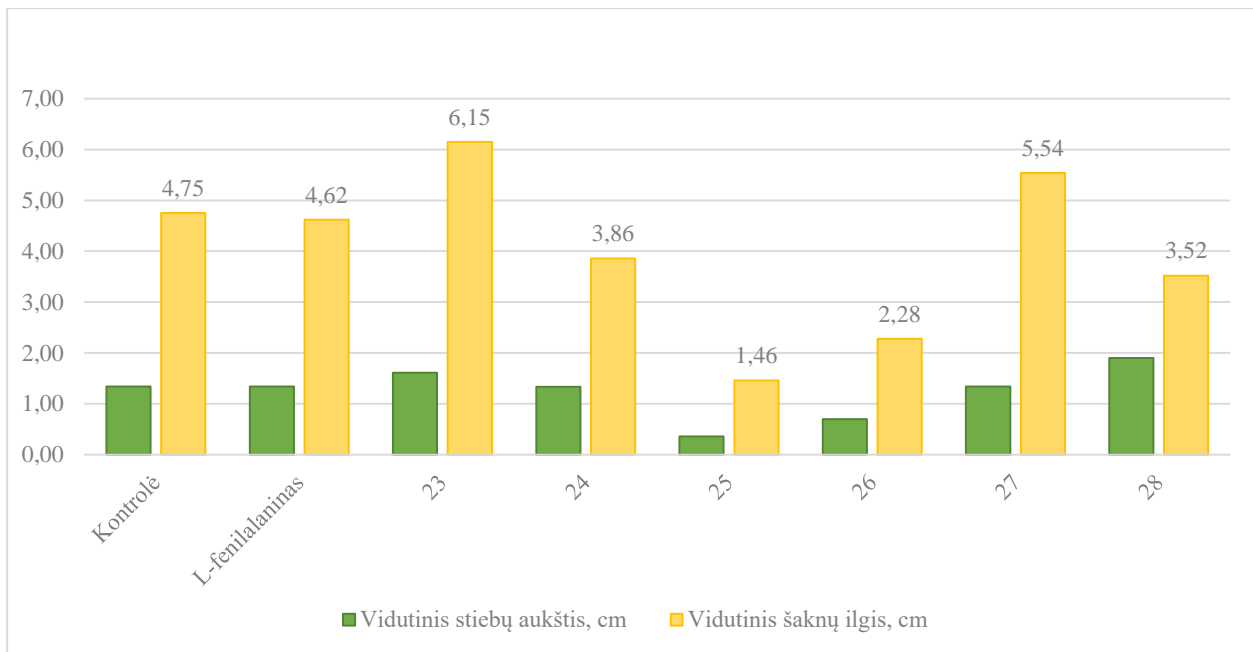
Iš pirmosios grupės junginių už kontrolę geresni buvo **1, 3, 7, 9, 10, 11, 13** junginiai. Didžiausią poveikį turėjo **7** junginys, su kuriuo šaknų ilgis buvo 2 kartus didesnis už kontrolę ir šiek tiek didesnis daigų aukštis. Galima išskirti ir **1** junginį, nes jis taip pat padidino šaknų ilgį 1,8 karto.



**3.8 pav.** Junginių, su tiazolono fragmentu, poveikis rapsų daigų aukščiui ir šaknų ilgiui

Antroje grupėje geresni rezultatai gauti su **15** ir **16** junginiais. Lyginant su kontrole **15** junginys šaknų ilgį padidino 40 proc., o **16** junginys – 14 proc. Daigų aukštį šioje grupėje taip pat labiausiai padidino **15** junginys.





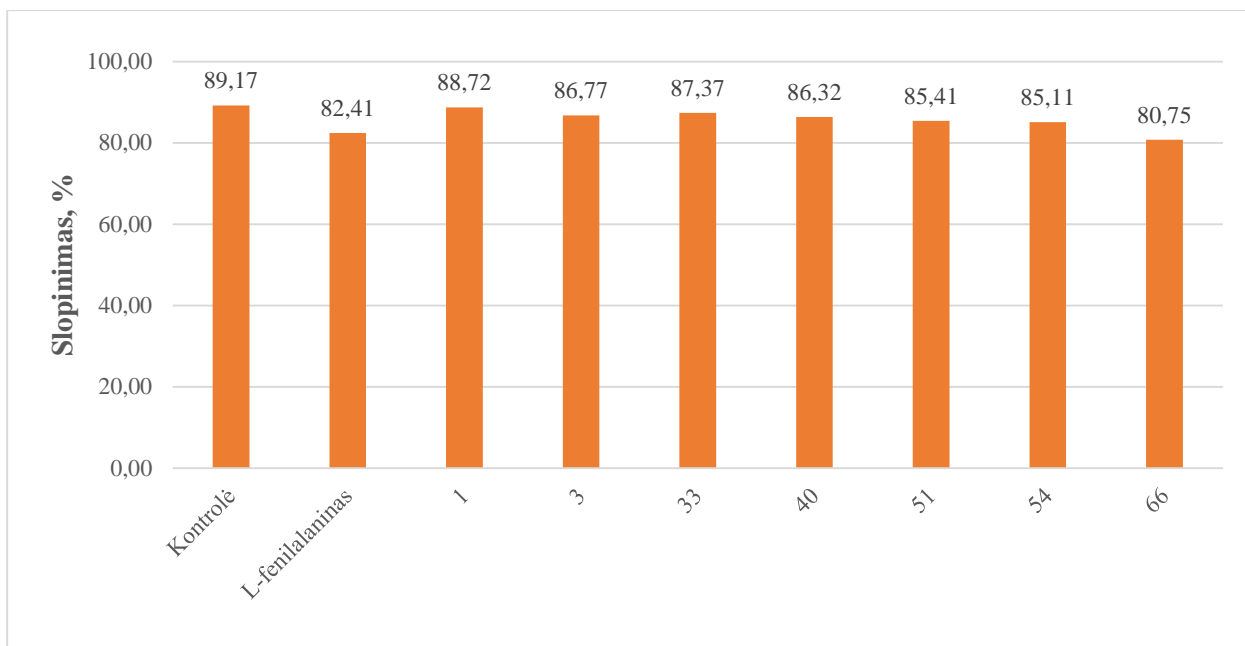
**3.9 pav.** Junginių, su tiazolo ir chalkono fragmentais, poveikis rapsų daigų aukščiui ir šaknų ilgiui

Trečią grupę sudaro šeši junginiai, iš kurių du padidino rapsų šaknų ilgį (**23** ir **27** junginiai). Rapsų daigintų su **23** junginio tirpalų šaknų ilgis buvo 6,15 cm, o su **27** junginiu – 5,54 cm. Daigų aukštį padidino **23** ir **28** junginiai, kiti teigiamo poveikio neturėjo.

Apibendrinant tyrimo rezultatus labiausiai buvo įvertintas poveikis augalo šaknų ilgiui, nes daigų aukštis dygimo metu nėra toks svarbus kaip šaknų formavimasis. Taigi iš visų trijų grupių atrinkti **1, 7, 13, 15, 23, 27** junginiai. Jie buvo naudoti MS terpės papildymui ir rapsų metabolitų ištyrimui.

### 3.3.1.1 Rapsų, daigintų su junginiais, antioksidacinio aktyvumo įvertinimas

Buvo ištirti rapsų, kurie auginti su junginių tirpalais, ekstraktų antioksidacinės savybės. Bandymas buvo atliktas tik su tais rapsais, kurių šaknų ilgis buvo didesnis už kontrolę.

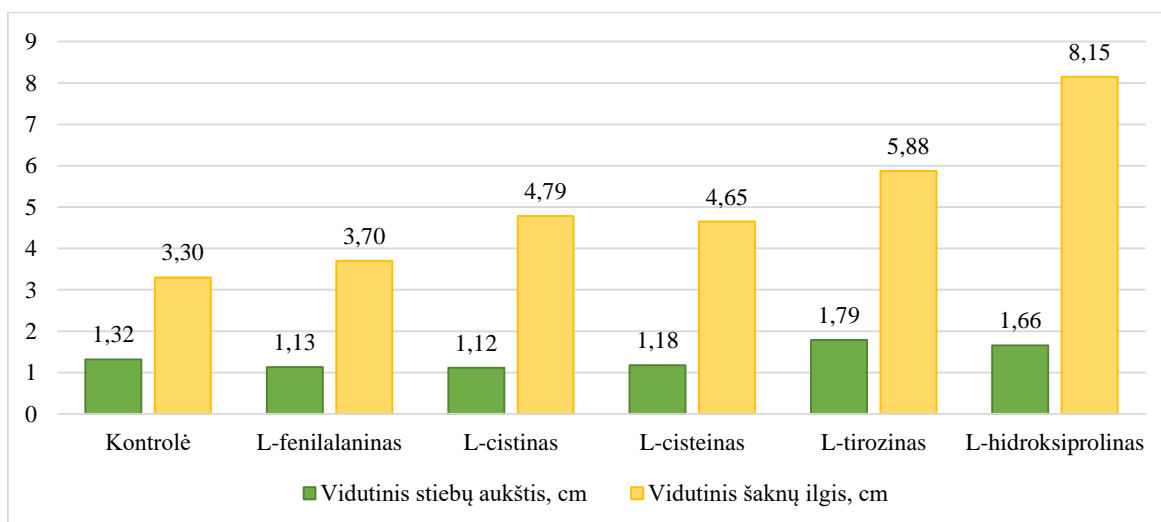


**3.10 pav.** Rapsų, daigintų su junginių tirpalais, antioksidacinis aktyvumas įvertinimas DPPH metodu

Iš 3.10 pav. diagramos matyti, kad Rapsų, daigintų su junginių tirpalais, antioksidacinis aktyvumas DPPH metodu gautas labai panašus.

### 3.3.2 Aminorūgščių poveikio rapsų daigumui *in vitro* įvertinimas

Šiame tyrime rapsai buvo daiginti su  $\alpha$ -aminorūgštimis, kurių koncentracija buvo 2 mg/l.



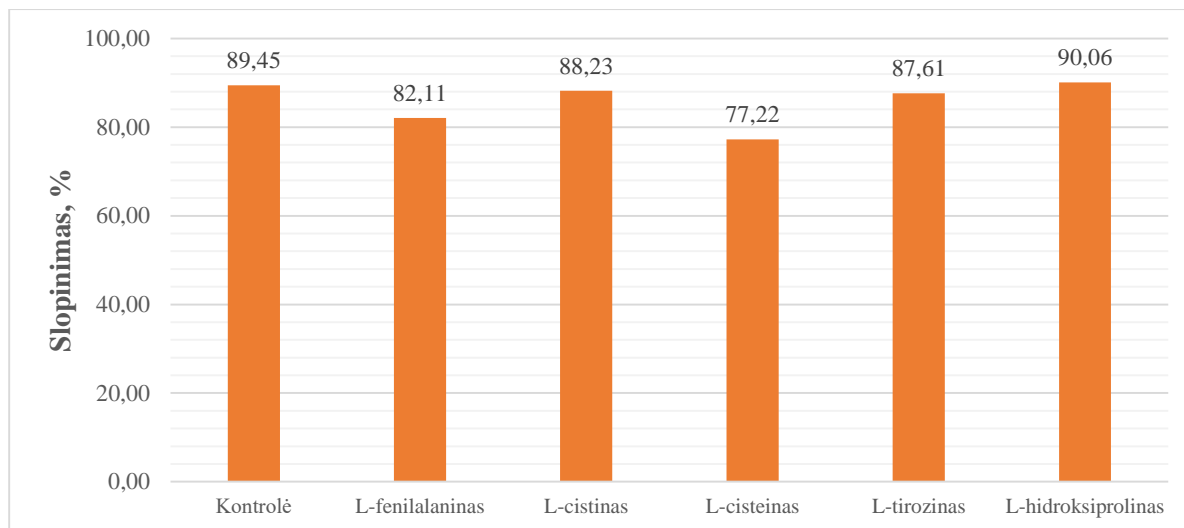
**3.11 pav.** Aminorūgščių poveikis rapsų stiebų aukščiui ir šaknų ilgiui

Iš pateiktų rezultatų (3.11 pav.) matyti, jog visos aminorūgštys skatino šaknų vystymąsi. L-fenilalaninas turėjo mažiausią poveikį šaknims, o stiebų aukštis buvo 0,19cm mažesnis už kontrolę. Didžiausias šaknų ilgis gautas rapsų augintų su L-hidroksiprolinu – 8,15 cm. Tai 2,5

karto ilgesnės šaknys nei kontrolės. Didžiausi stiebai nustatyti rapsų augintų su L-tirozino tirpalu. Vidutinis stiebų aukštis buvo 5,88 cm.

### 3.3.2.1 Rapsų, daigintų su aminorūgštimis, antioksidacinio aktyvumo įvertinimas

Taip pat buvo nustatytas rapsų, daigintų 2 mg/ml aminorūgščių tirpaluose, ekstraktų antioksidacinis aktyvumas.



### 3.12 pav. Rapsų, augintų su aminorūgštimis, antioksidacinis aktyvumas slopinant DPPH

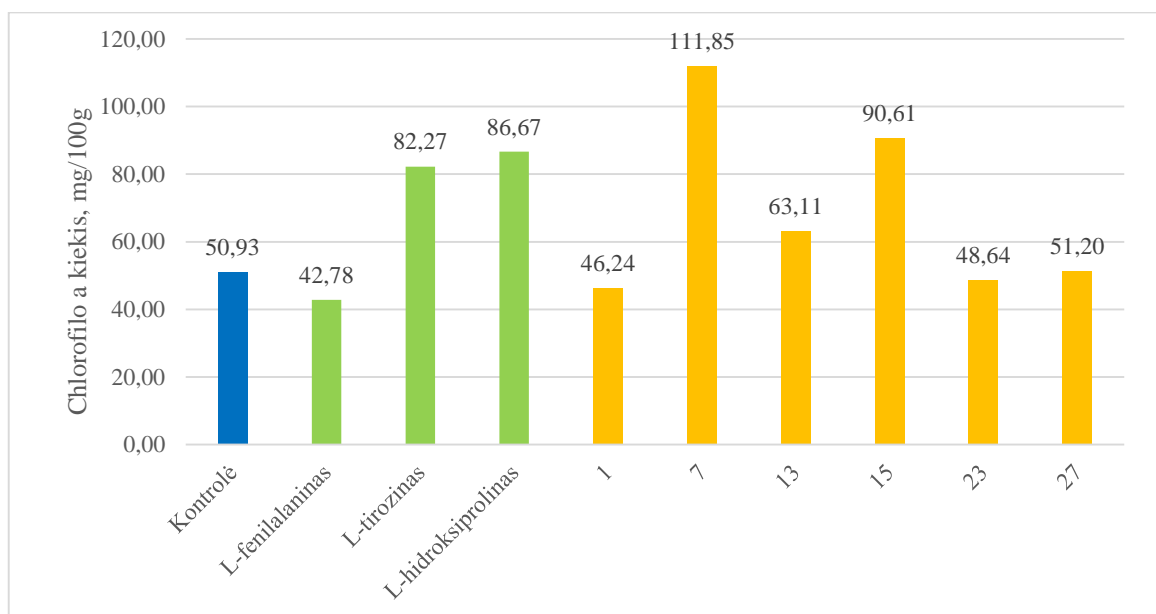
Iš rapsų antioksidacinio aktyvumo įvertinimo rezultatų (3.12 pav.) galima teigti, kad L-cisteinas neigiamai paveikė rapsuose esančių antioksidantų aktyvumą. Su šia aminorūgštimi augintų rapsų ekstraktas slopino 77,22 proc. DPPH radikalų, kai rapsai daiginti vandenyje slopino – 89,45 proc.

## 3.4 Rapsų metabolitų įvertinimas

Šiuose tyrimuose buvo nustatytas atrinktų junginių poveikis metabolitų susidarimui rapsuose. Nustatyti chlorofilo *a* ir *b*, karotinoidų, baltymų kiekiai. Taip pat įvertintas rapsuose esančios mirozinazės aktyvumas. Tyrimams rapsai buvo auginti ant MS terpės, kuri buvo papildyta  $\alpha$ -aminorūgštimis (L-fenilalaninu, L-tiroziniu, L-hidroksiprolinu) ir **1, 7, 13, 15, 23, 27** junginiais. Naudota tirpalų koncentracija buvo 2 mg/l. Rapsai auginti 14 dienų.

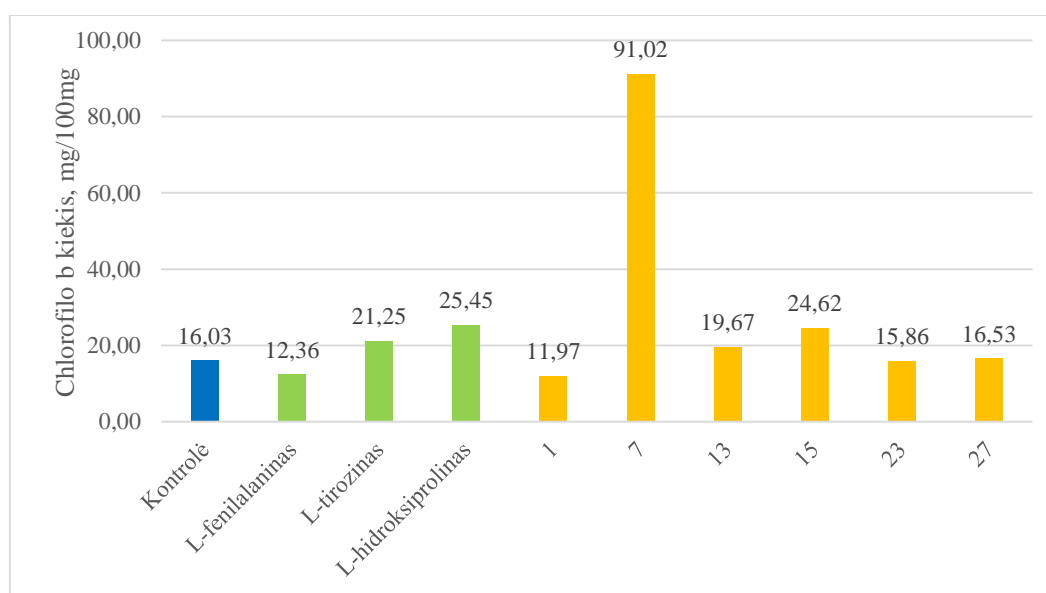
### 3.4.1 Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekių rapsuose įvertinimas

Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų koncentracijos rapsų ekstraktuose nustatyti prie šių bangų ilgių: chlorofilui *a* – 662 nm; chlorofilui *b* – 644 nm; karotinoidams – 441 nm.



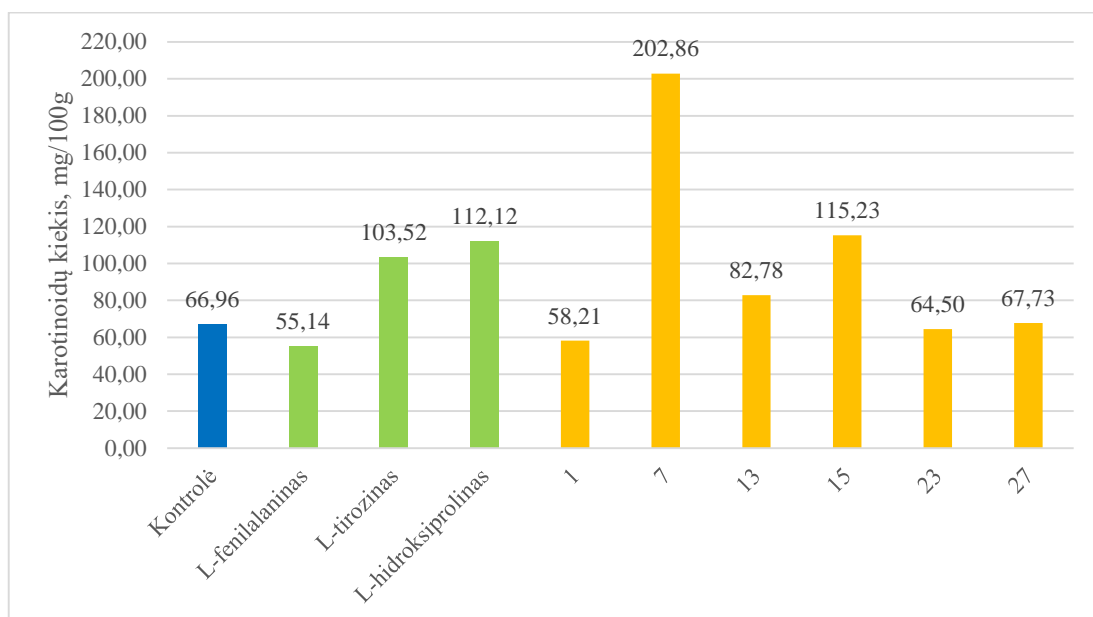
3.13 pav. Chlorofilo *a* kiekio rapsuose įvertinimas

Chlorofilo *a* rezultatai parodė, kad net penki junginiai padidino jo kiekį. Iš  $\alpha$ -aminorūgščių daugiausia padidino – L-hidroksiprolinas (86,67 mg/100g). Didžiausia chlorofilo *a* koncentracija (2,2 karto didesnė už kontrolę) nustatyta rapsuose, augintuose MS terpėje, papildytoje 7 junginiu. Taip pat rapsuose, augintuose MS terpėje su 15 junginiu, chlorofilo *a* kiekis buvo didesnis 1,7 karto nei kontroliniame mėginyje.



3.14 pav. Chlorofilo *b* kiekio rapsuose įvertinimas

Chlorofilo *b* augaluose visada yra mažiau. Pateiktoje diagramoje matyti, kad **7** junginio įdėjimas į MS terpę padidino chlorofilo *b* kiekį rapsuose 5,7 karto, lyginant su kontrole. Iš  $\alpha$ -aminorūgščių labiausiai padidino chlorofilo *b* kiekį L-hidroksiprolinas (25,45 mg/100mg).



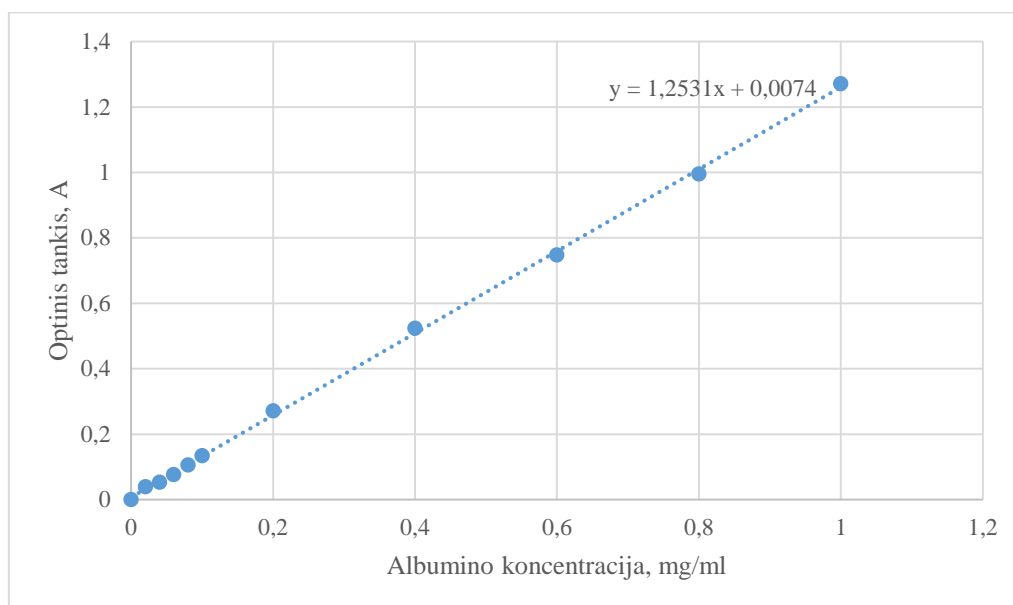
**3.15 pav.** Karotinoidų kiekio rapsuose įvertinimas

Karotinoidų kiekis didžiausias taip pat su **7** junginiu. Jis lyginant su kontrole net 3 kartus didesnis. Taip pat rapsuose, augintuose MS terpėje su L-hidroksiprolinu, nustatytas 2 kartus didesnis karotinoidų kiekis. Galima išskirti ir **15** junginį, kurio pridėjimas MS terpę padidino karotinoidų kiekį rapsuose 2 kartus, lyginant su kontrole.

Taigi, ištyrus ir įvertinus chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų koncentracijas rapsuose, matyti, kad teigiamą poveikį jų kiekiams turėjo **7** junginys, **15** junginys ir L-hidroksiprolinas.

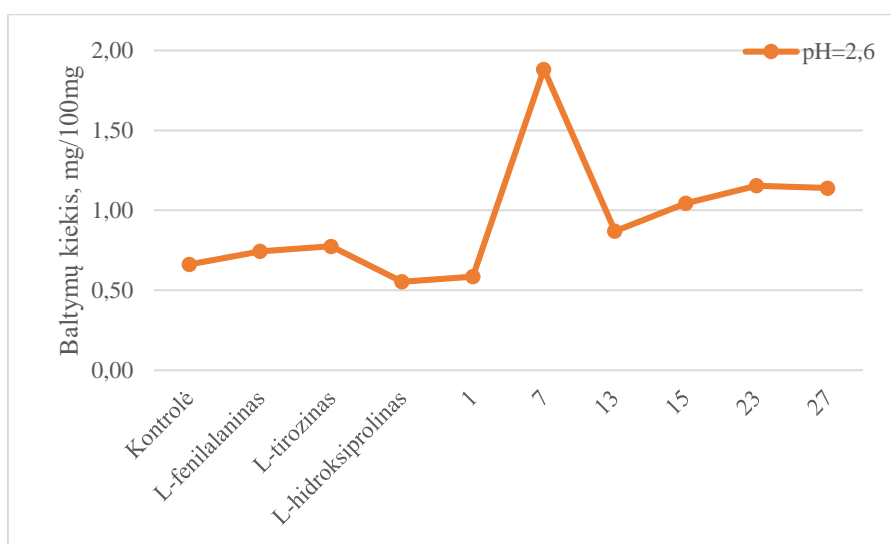
### 3.4.2 Baltymų kiekio rapsuose įvertinimas

Baltymų kiekis rapsuose buvo nustatytas Bradfordo metodu. Standartui naudotas albuminas, pagal kurio koncentracijas buvo nubraižyta kalibracinė kreivė (3.16 pav.).



3.16 pav. Baltymų kalibracinė kreivė.

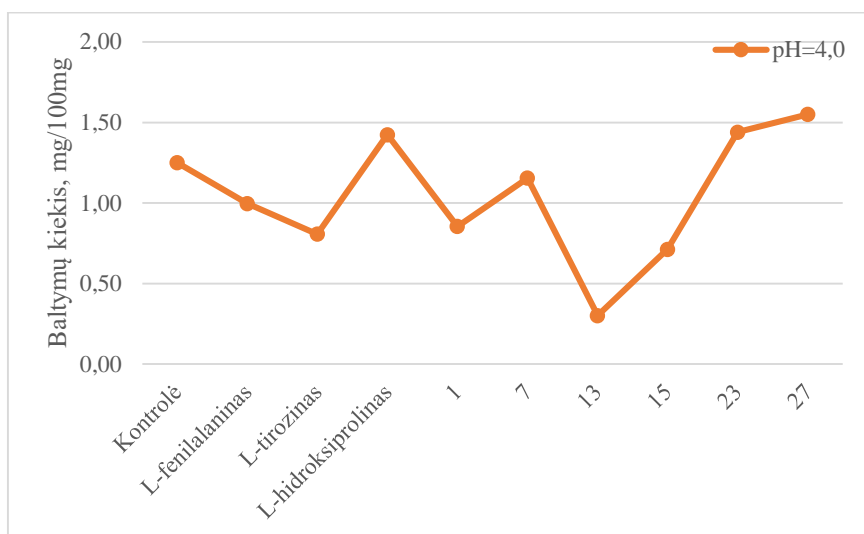
Tyrimė baltymai ekstrahuoti su penkiais skirtingais buferiais, kurių pH buvo 2,6; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0. Gauti rezultatai pateikti žemiau esančiose diagramose.



3.17 pav. Baltymų kiekis rapsuose, kurie ekstrahuoti 0,1 M Glicino – HCl (pH=2,6) buferiu

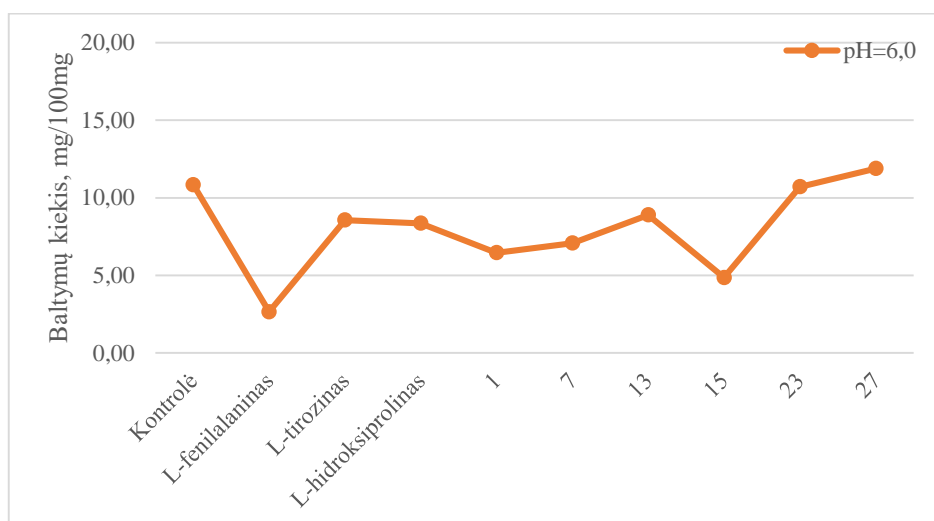
Paveikslėlyje 3.17 pateikti baltymų kiekiai rapsų ekstraktuose, gautuose panaudojus buferį, kurio pH buvo 2,6. Kaip matyti iš diagramos, rapsuose augintuose MS terpėje, papildytoje 7 junginiu, baltymų kiekis buvo didžiausias – 1,88 mg/100mg. Tai yra 2,8 karto daugiau, nei

kontrolėje, kuri gauta iš rapsų augintų MS terpėje. Didžiausias baltymų kiekis iš  $\alpha$ -aminorūgščių (0,78 mg/100mg) buvo rapsuose, kurie auginti MS terpėje su L-tirozinu, bet tai tik 12 proc. daugiau nei kontrolėje.



**3.18 pav.** Baltymų kiekis rapsuose, kurie ekstrahuoti 0,1 M natrio acetato (pH = 4,0) buferiu

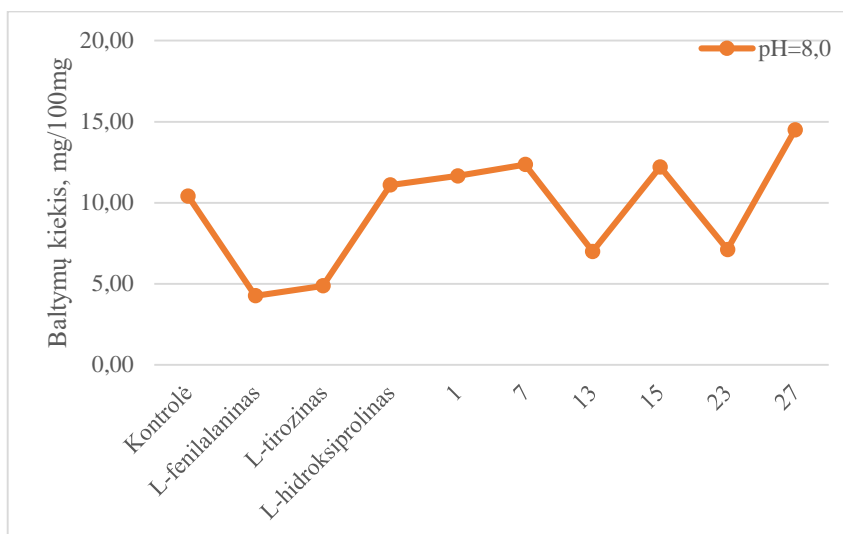
Paveiksle 3.18 pateikti baltymų kiekiai rapsų ekstraktuose, gautuose panaudojus buferį, kurio pH 4,0. Nustatyta, kad rapsuose augintuose MS terpėje, turinčioje 27 junginių, baltymų kiekis buvo didžiausias (1,55 mg/100mg). Tai yra 2,8 karto daugiau, nei kontrolėje, kuri gauta iš rapsų augintų MS terpėje. Didžiausias baltymų kiekis tarp  $\alpha$ -aminorūgščių (1,42 mg/100mg) buvo rapsuose, kurie auginti MS terpėje su L-hidroksiprolinu (13,6 proc. daugiau nei kontrolėje).



**3.19 pav.** Baltymų kiekis rapsuose, kurie ekstrahuoti 0,1 M natrio acetato (pH=6,0) buferiu

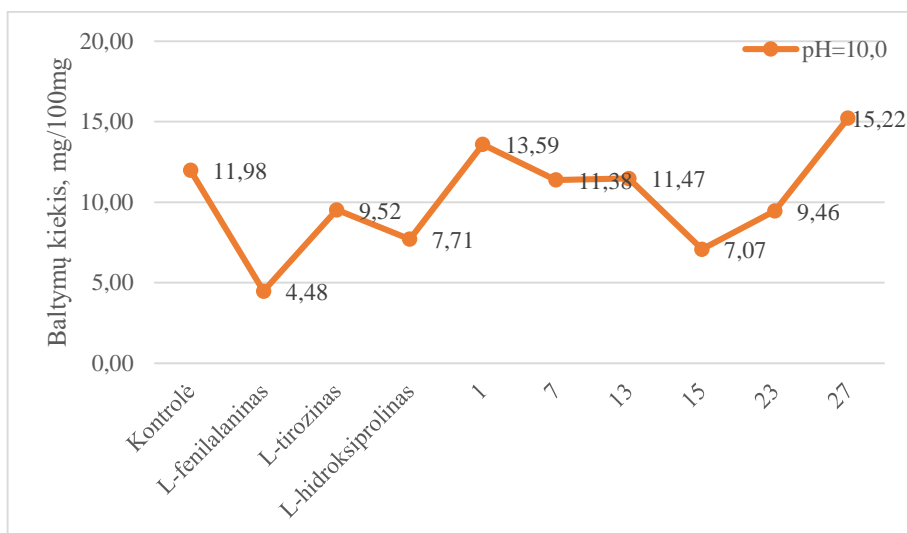
Paveiksle 3.19 pateikti baltymų kiekiai rapsų ekstraktuose, gautuose panaudojus buferį, kurio pH 6,0. Kaip matyti iš diagramos, rapsuose, augintuose MS terpėje, papildytoje 27 junginiu, baltymų

kiekis buvo didžiausias – 11,88 mg/100mg. Tai 1,04 mg daugiau nei kontrolėje, kuri gauta iš rapsų augintų MS terpėje. Visuose kituose rapsuose nustatytas mažesnis baltymų kiekis nei kontrolėje.



**3.20 pav.** Baltymų kiekis rapsuose, kurie ekstrahuoti 0,1 M Tris – HCl (pH=8,0) buferiu

Paveiksle 3.20 pateikti baltymų kiekiai rapsų ekstraktuose, gautuose panaudojus buferį, kurio pH 8,0. Nustatyta, kad rapsuose auginsiuose MS terpėje, papildytoje **27** junginį, baltymų kiekis buvo didžiausias (14,49 mg/100mg), t. y. 1,4 karto daugiau, nei kontrolėje, kuri gauta iš rapsų augintų MS terpėje. Didžiausias baltymų kiekis tarp  $\alpha$ -aminorūgščių (11,09 mg/100mg) buvo rapsuose, kurie auginti MS terpėje su L-hidroksiprolinu.



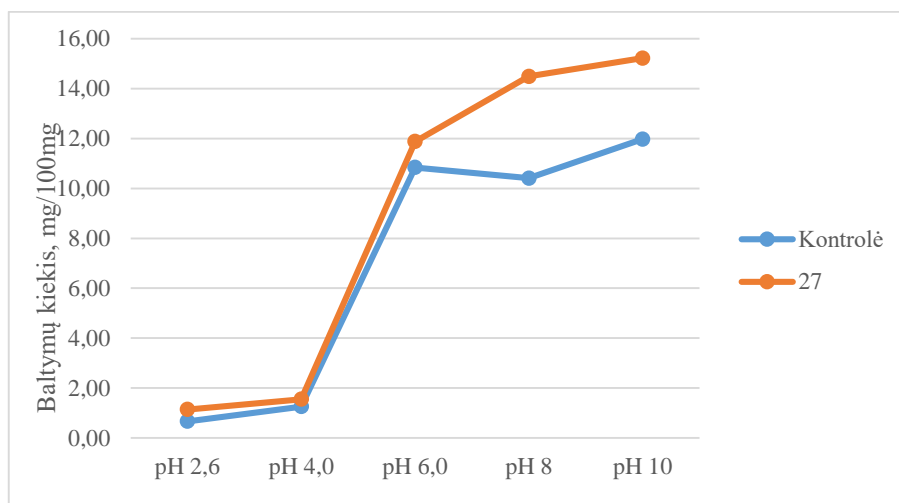
**3.21 pav.** Baltymų kiekis rapsuose, kurie ekstrahuoti 0,1 M natrio borato (pH=10,0) buferiu

Paveiksle 3.21 pateikti baltymų kiekiai rapsų ekstraktuose, gautuose panaudojus buferį, kurio pH 10,0. Kaip matyti iš diagramos, rapsuose augintuose MS terpėje, papildytoje **27** junginiu, baltymų kiekis buvo didžiausias – 15,88 mg/100mg, t. y. 3,76 mg daugiau nei kontrolėje. Taip pat



didesnis baltymų kiekis nei kontrolei nustatytas rapsuose, augintuose MS terpėje papildytoje 1 junginiu.

Pateiktuose rezultatuose matyti, jog didžiausios koncentracijos buvo su buferiais, kurių pH buvo 6,0; 8,0; 10,0. Ekstrahuojant su jais didžiausios baltymų koncentracijos lyginant su kontrole nustatytos rapsuose, augintuose MS terpėje su 27 junginiu (3.22 pav.).

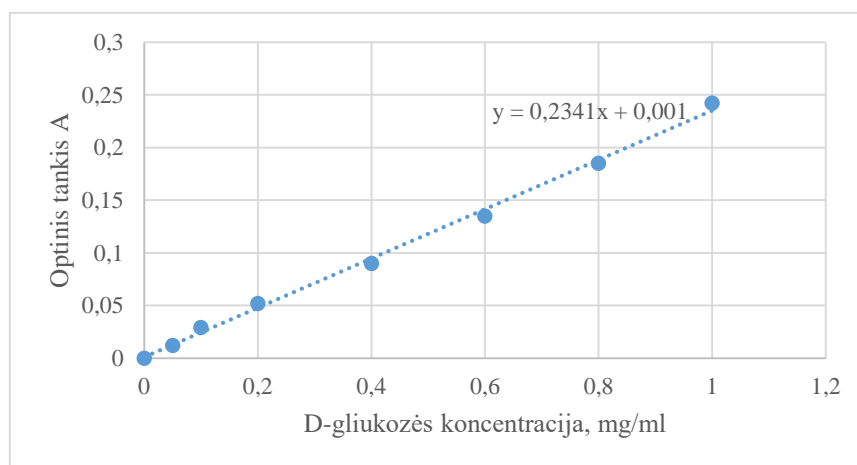


**3.22 pav.** Baltymų kiekis rapsuose, augintuose MS terpėje su 27 junginiu prie skirtingų pH

Taigi pagal rezultatus galima teigti, kad 27 junginys labiausiai padidino baltymų kiekį rapsuose.

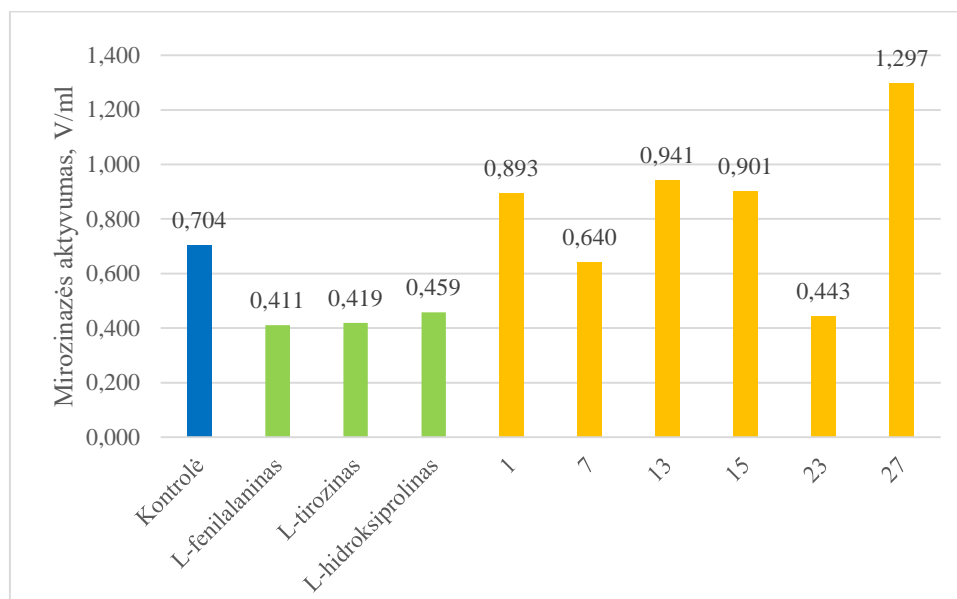
### 3.4.3 Rapsų mirozinazės aktyvumo įvertinimas

Tiriant mirozinazės aktyvumą spektrofotometru, buvo nubraižyta D-gliukozės kalibracinė kreivė (3.23 pav.)



**3.23 pav.** D-gliukozės kalibracinė kreivė

Ištirtas mirozinazės aktyvumas rapsuose, augintuose su atrinktais junginiais, o rezultatai pateikti 3.24 paveiksle.



**3.24 pav.** Mirozinazės aktyvumo įvertinimas

Pagal aukščiau pateiktos diagramos duomenis, matyti, kad tirtos  $\alpha$ -aminorūgštys turėjo neigiamą poveikį ir sumažino mirozinazės aktyvumą, tačiau iš šešių junginių, net keturi – padidino. Didžiausią poveikį turėjo **27** junginys, su kuriuo mirozinazės aktyvumas nustatytas 1,297 V/ml 1,8 karto didesnis nei kontrolinio varianto.

## IŠVADOS

1. Nustatyta, kad geriausiai bakterijų augimą slopino 3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-bromfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis. Slopinimo zona prieš *Xanthomonas campestris* bakterija buvo 1,44 cm, o prieš *Rhizobium radiobacter* – 1,17cm.
2. Nustatyta, kad stipriausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo 3-[5-{1-[(E)-2-((Z)-1{2-[(3-hidroksi-3-oksopropil)-(4-metoksifenil)amino]-4-metil-1,3-tiazol-5-il}etiliden)hidrazono}etil-4-metil-1,3-tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis. Ji neutralizavo 91,18 proc. DPPH laisvų radikalų.
3. Nustatyta, kad rapsų šaknų formavimąsi skatino visos aminorūgštys, bet labiausiai L-hidroksiprolinas. Šaknų ilgis padidėjo 2,6 karto lyginant su kontrole.
4. Įvertinta, kad labiausiai rapsų šaknų formavimąsi skatino 3-[(4-metoksifenil)(1,3-tiazol-2-il)amino]propano rūgštis, 3-[[4-(4-fluorfenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis ir 3-[5-[(4-chlorfenil)metilen]-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino]propano rūgštis. Visi junginiai padidino šaknų ilgį 2 kartus, lyginant su kontrole.
5. Nustatyta, kad chlorofilo a ir b bei karotinoidų koncentracijoms teigiamą poveikį turėjo 3-[[4-(4-fluorfenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis ir 3-[5-[(4-chlorfenil)metilen]-4-okso-tiazol-2-il]-4-metoksifenil)amino]propano rūgštis bei L-hidroksiprolinas. Iš šių trijų geriausia 3-[[4-(4-fluorfenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis, kuri, chlorofilo a kiekį padidino 1,7 karto; chlorofilo b – 5,7 karto, o karotinoidų – 3 kartus, lyginant su kontrole.
6. Nustatyta, kad didžiausias baltymų kiekis buvo rapsuose, kurie augo MS terpėje papildytoje 3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-bromfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštimi.
7. Ištyrus mirozinazės aktyvumą rapsuose gauta, kad 3-[(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-bromfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis padidino fermento aktyvumą 1,8 karto, lyginant su kontrole.
8. Tolimesniems tyrimams iš naujai susintetintų junginių rekomenduojami 1, 3-[[4-(4-fluorfenil)tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis, 3-[5-{1-[(E)-2-((Z)-1{2-[(3-hidroksi-3-oksopropil)-(4-metoksifenil)amino]-4-metil-1,3-tiazol-5-il}etiliden)hidrazono}etil-4-metil-1,3-tiazol-2-il]-(4-metoksifenil)amino]propano rūgštis, ir 3-[[4-(4-metoksifenil)-{4-metil-5-[3-(4-bromfenil)prop-2-enoil]-1,3-tiazol-2-il}amino]propano rūgštis.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. KHAN, Imtiaz. Sajid Ali, Shahid Hameed et al. Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *European Journal of Medicinal chemistry*. 2010, 45, 5200–5207.
2. FARGHALY, Abdel-Rahman ir Hussein El-Kashef. Synthesis of some new azoles with antiviral potential. *ARKIVOC*. 2006 (xi), 76-90. ISSN 1424-6376.
3. JAISHREE, V., N. Ramdas, J. Sachin, B. Ramesh. In vitro antioxidant properties of new thiazole derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2012, 16, 371-376.
4. FRIJA, Luis M.T., Armando J.L. Pombeiro, Maximilian N. Kopylovich. Coordination chemistry of thiazoles, isothiazoles and thiadiazoles. *Coordination Chemistry Reviews*. 2016, 308, 32-55.
5. MATYSIAK, Kinga, Sylwia Kaczmarek. Effect of chlorocholine chloride and triazoles – tebuconazole and flusilazole on winter oilseed rape (*Brassica napus* var. *Oleifera* L.) in response to the application term and sowing density. *Journal of plant protection research*. 2013, 53 (1).
6. ANDREANI, A. et al. Chemopreventive and antioxidant activity of 6-substituted imidazo [2,1-b]thiazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013, 68, 412-421.
7. LIARAS, K., A. Geronikaki, J. Glamoclija, A. Ciric, M. Sokovic. Thiazole-based chalcones as potent antimicrobial agents. Synthesis and biological evaluation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2011, 19, 3135–3140.
8. OMAR, Kouatli et al. Novel 4-thiazolidinone derivatives as potential antifungal and antibacterial drugs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2010, 18, 426-432.
9. MADHU, LN, Suchetha Kumari N, Sarojini BK. In vitro and in vivo antioxidant property of sulphuryl group containing 1,2,4 triazole derivative. *Drug invention Today*. 2011. ISSN: 0975-7619.
10. JAKIENĖ, E., V. Šlapakauskas, V. Mickevičius, B. Sapijanksaitė. Stilių įtaka cukrinių runkelių šviesos absorbcijai, chlorofilų kaupimuisi ir produktyvumui. *Žemės ūkio mokslai*. 2008, 15 (2), 32-40.
11. RAJALEKSHMI, K.M., Cheruth Abdul Jaleel, M.M. Azooz and R. Panneerselvam. Triazole salters antioxidant in two medicinal herbs of Lamiaceae Family. *Global Journal of Molecular Sciences* 2008, 3 (2), 67-72.
12. HELDT, Hans-Walter; Fiona HELDT. *Plant Biochemistry*. Amsterdam, Academic Press, 2005.

13. STEWART C., N.J. Hoboken. *Plant Biotechnology And Genetics: Principles, Techniques, And Applications...*: Wiley-Interscience; 2008.
14. RIEFLER M, Novak O, Strnad M, Schmülling T. Arabidopsis Cytokinin Receptor Mutants Reveal Functions in Shoot Growth, Leaf Senescence, Seed Size, Germination, Root Development, and Cytokinin Metabolism. *The Plant Cell*. 2006, 18(1), 40–54.
15. ZHU J-K. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants. Annual review of plant biology. 2002;53:247-273. doi:10.1146/annurev.arplant.53.091401.143329.
16. MACZULAK, AE. *The Smart Guide to Biology*. Norman. Smart Guide Publications Inc, 2012. (The Smart Guide Series). ISBN: 9781937636203.
17. BARRETT, G. C., Elmore, Donald Trevor. *Amino acids and peptides*. Cambridge University Press, 1998.
18. KUBALA, S. et al. Enhanced expression of the proline synthesis gene *P5CSA* in relation to seed osmopriming improvement of *Brassica napus* germination under salinity stress. *Journal of Plant Physiology*. 2015, 183, 1-12.
19. KAMINSKAITĖ V, I. Jonuškienė, A. Voskienė. 3-(6,11-Diokso-6,11-dihidro-12H-benzo[b]fenoksazin-12-il)butano rūgšties poveikis rapsų (*brassica napus* L.) morfogenezei *in vitro* ir gliukozinolatų bei tiocianatų kiekiui. *Cheminė Technologija*. 2012, 2 (60).
20. RAMANAUSKAS, A. ir I. Jonuškienė. Antrinių metabolitų kitimo įvertinimas vaistiniuose augaluose ir vaistinio šalavijo (*Salvia officinalis* L.) auginimo *in vitro* optimizavimas. *Cheminė technologija*. 2013, 2 (64).
21. ROSYARA, U. R., N. K. Gupta, S. Gupta et al. *Genomics and phenomics of chlorophyll associated traits*. Nova Science Publisher, Inc. 2012.
22. LIMA PETITO N. D. da Silva Dias et al. Increasing solubility of red bell pepper carotenoids by complexation with 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin. *Food Chemistry*. 2016, 208, 124-131.
23. BUTKUTĖ, B., Z. Dabkevičius. Individualių gliukozinolatų kaupimosi dėsningumai ir jų tarpusavio santykis rapsų sėklose. *Žemės ūkio mokslai*. 2008, 15 (2), 24–31.
24. PONTOPPIDAN Bo. Studies of the glucosinolates-myrosinase system in relation to insect herbivory on oilseed rape (*Brassica napus* L.) and in *Arabidopsis thaliana* (doctoral thesis). Uppsala, 2001.
25. RÖBBELEN, G. Mutation breeding for quality improvement - a case study for oilseed crops. *Mutation Breeding Review*. 1990 (6), 1–43. ISSN 1011-2618
26. BĖČIUS, K. ir kt. *Sėklininkystės ir selekcijos pagrindai: vadovėlis agronomijos specialybės studentams*. Vilnius: Academia, 1994. ISBN 9986-08-010-X

27. BRAZAUSKIENĖ, I.; G. ŠIDLAUSKAS. *Žieminiai rapsai*. Dotnuva: Lietuvos žemdirbystės institutas, 1994. ISBN 9986-527-08-2
28. BRAZAUSKIENĖ, I.; S. BERNOTAS, G. ŠIDLAUSKAS. *Rapsų augintojo atmintinė: Žieminiai rapsai*. Dotnuva: Lietuvos žemdirbystės institutas, 2003. ISBN 9986-527-96-1
29. Rapsų augimo perspektyvos [žiūrėta 2016-05-09] prieiga per internetą <http://www.rapsai.lt/rinkos-naujienos/rapsu-auginimo-perspektyvos-didinti-plotus-ar-ne/>
30. Daugiau žiemių rapsų [žiūrėta 2016-05-09] prieiga per internetą <http://www.rapsai.lt/agrotechnologiju-naujienos/sekime-daugiau-zieminiu-rapsu/>
31. MIKULIONIENĖ, Sabina; Friedrich SCHÖNE, Heinz JEROCH, Birutė KUSAITĖ. Rapsų sėklų ir kai kurių jų produktų cheminiai tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika*. 2006, 36 (58), 60–63. ISSN 1392-2130
32. JEROCH, H. Rapsų sėklų ir jų produktų reikšme gyvūnų mitybai ir gyvūninių maisto produktų kokybei. *Žemės ūkio mokslai*. 2008, 15 (4), 40–52.
33. BALODIS, Oskar; Biruta, BANKINA; Zinta GAILE. Fungicide use efficiency for disease control in winter rape. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2008, 95 (3), 13–18. ISSN 1392-3196
34. VELIČKA, R.; R. PUPALIENĖ; L. M. BUTKEVIČIENĖ; Z. KRIAUCIŪNIENĖ; V. GECAITĖ. Žemės dirbimo įtaka ligų plitimui skirtingų veislių žiemių rapsų pasėlyje. *Žemės ūkio mokslai*. 2014, 21 (2), 49–57
35. MANSFIELD, J. et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*. 2012, 13 (6), 614-629.
36. VILLETH, G.R.C.; L.S.T. CARMO; L. P. SILVA; M. F. SANTOS et al. Identification of proteins in susceptible and resistant *Brassica oleracea* responsive to *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* infection. *Journal of Proteomics*. 2016.
37. VELIČKA, R. *Rapsai*. Kaunas: Lututė, 2002.
38. Šiaudinis, G. Azoto ir sieros trąšų įtaka vasarinių rapsų produktyvumui energijos sąnaudų ir auginimo rentabilumo požiūriu. *Ekonomika ir vadyba: aktualijos ir perspektyvos*. 20102, 3 (19), 231–239.
39. RAZA, W., Z. Wei, N. Ling, Q. Huang, Q. Shen. Effect of organic fertilizers prepared from organic waste materials on the production of antibacterial volatile organic compounds by two biocontrol *Bacillus amyloliquefaciens* strains. *Journal of Biotechnology*. 2016, 227, 43–53.
40. MCALLISTER, Chandra H., M. Wolansky, A.G. Good. The impact on nitrogen-efficient phenotypes when aspartate aminotransferase is expressed tissue-specifically in *Brassica napus*. *News Negatives in Plant Science*. 2016, 3, 1–9.

41. QUEZADA, J.C., A.W. Lenssen, K.J. Moore, J.E. Sawyer, P. Summer. Amino acid biosynthesis byproducts are a suitable source of nitrogen for corn production. *Field Crop Research*. 2015, 184, 123–132.
42. TUMOSIENĖ I., I. Jonuškienė, K. Kantminienė, Z. J. Beresnevičius. The synthesis ofazole derivatives from 3-[(4-methylphenyl)amino]-propanehydrazide and its *N*'-phenylcarbonyl derivatives, and their antibacterial activity. *Monatsh Chem*. 2012.
43. 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
44. BRAND-WILLIAMS W., Cuvelier M.E. & Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1995, 28, 25-30
45. DAUNORAS G. Farmakopėjos straipsnių rinkinys. Kaunas, Kauno medicinos universiteto Spaudos ir leidybos centro leidykla, 2001. 203 p.
46. SILVA A.L.C., C.S. Caruso et al. Growth characteristics and dynamics of protein synthesis in callus cultures from *glycine wightii* (wight & arn.) Verdc. *Cienc. agrotec.*, Lavras, 2005, 29 (6), 1161-1166.
47. PALMIERI S., Leoni O. & Iori R. A steady-state kinetics study of myrosinase with direct ultraviolet spectrophotometric assay. *Anal. Biochem.* 1982, 123, 320-324

## DALYVAVIMAS MOKSLINĖSE KONFERENCIJOSE

1. Teišerskytė Kristina, Jonuškienė Ilona, Širvaitytė Justa, Valeika Virgilijus. Amino acid impact on rape (*Brassica napus* L.) germination. „The 9<sup>th</sup> Vital Nature Sign 2015“. International scientific conference. Vytautas Magnus University, Kaunas, 2015.
2. Teišerskytė Kristina, Jonuškienė Ilona, Širvaitytė Justa, Sapijanskaite Birutė. Impact of 4-[(9-alkylcarbazol-3-yl)amino]-3-carboxybutyric acid disodium salts on rape (*Brassica napus* L.) Germination *in vitro*. International conference „Chemistry & Chemical Technology 2016“, Vilnius University, Vilnius, 2016.
3. Širvaitytė Justa, Komičiūtė Ineta, Teišerskytė Kristina, Beleška Kęstutis, Valeika Virgilijus. Fito-oda. „Technorama 2016“, Kauno technologijos universitetas, Kaunas, 2016.