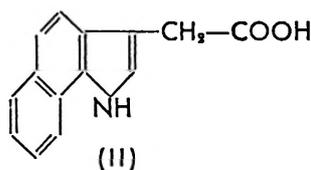
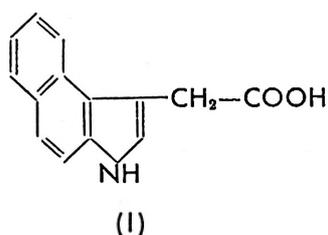


Istituto di Chimica Farmaceutica dell'Università di Genova  
Istituto de Patologia Vegetale dell'Università di Milano, Italia

## Sul variare dell'attività auxinica negli acidi indol-3-acetico, 4,5-benzoindol-3-acetico e 4,5-naftoindol-3-acetico (\*)

G. Minardi e P. Bonola

Lo studio dei rapporti che legano costituzione chimica ed azione auxinica ha portato alla sintesi (1) ed all'esame dell'attività degli acidi 4,5-benzoindol-3-acetico (I) e 6,7-benzoindol-3-acetico (II), sopra i quali uno di noi ha riferito in una precedente nota (2).



Le osservazioni compiute al saggio di WENT ed in quello di BONNER hanno portato all'interessante conclusione che mentre il primo dei due acidi è dotata di una notevole attività principale di crescita, leggermente superiore alla stessa eteroauxina, l'altro si dimostra praticamente inattivo.

L'incremento dell'attività principale dell'acido 4,5-benzoindol-3-acetico nei confronti dell'indol-3-acetico può trovare ragione nella maggior ampiezza del sistema ciclico piano con

(\*) Comunicación 10-7, a las V Jornadas Bioquímicas Latinas. Barcelona, mayo 1959.

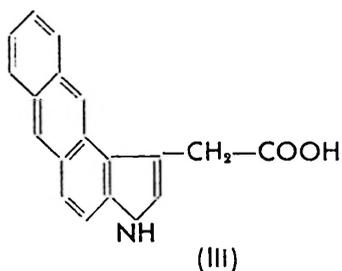
alta attività di superficie; l'inattività dell'altro, il 6,7-benzoindol-3-acetico nel quale troviamo uguale grandezza molecolare e costituzione assai simile, può cercarsi invece nella diversa possibilità di posizione del dipolo del carbossile rispetto al piano del sistema ciclico, secondo un concetto sviluppato da WELDSTRA (5) che si ricollega poi, sotto vari aspetti, alla possibilità di una diversa azione coenzimatica.

Per contro, l'estensione del sistema anellare ha portato sempre nel 4,5-benzoindol-acetico ad una diminuzione dell'attività se condaria di crescita, come appare ben evidente al «test-avena».

Le mutue relazioni che in una molecola dotata di attività auxinica intercorrono tra gruppo idrofilo (carbossile della catena) e gruppo lipofilo (anello o sistema anellare non saturo) ed alle quali si assegna un ruolo determinante nell'adsorbimento sulla membrana della cellula vegetale, rappresentano un problema tutt'ora poco conosciuto.

Era già noto che, conservando immutato il nucleo indolico, se alla catena acetica viene sostituita quella propionica, butirrica o valerianica l'attività principale permane pressochè immutata (test-pisello), mentre diminuiscono sensibilmente le attività secondarie (test-avena). Con l'appensantirsi ulteriore della catena laterale si arriva all'inattività (3).

Non era stato ancora preso in esame un altro aspetto del problema, cioè le modificazioni che potevano verificarsi nell'attività della eteroauxina con l'ampliamento del nucleo indolico, ed appunto nell'intento di approfondire la conoscenza del reale ruolo del nucleo nella estrinsecazione dell'attività fisiologica e di sviluppare quanto era stato osservato a proposito di due acidi benzoindolacetici, abbiamo preso ora in esame un acido con sistema anellare aromatico ancora più esteso, e cioè l'acido 4,5-naftoindol-3-acetico (III) preparato a questo scopo da FINSTERLE (4).



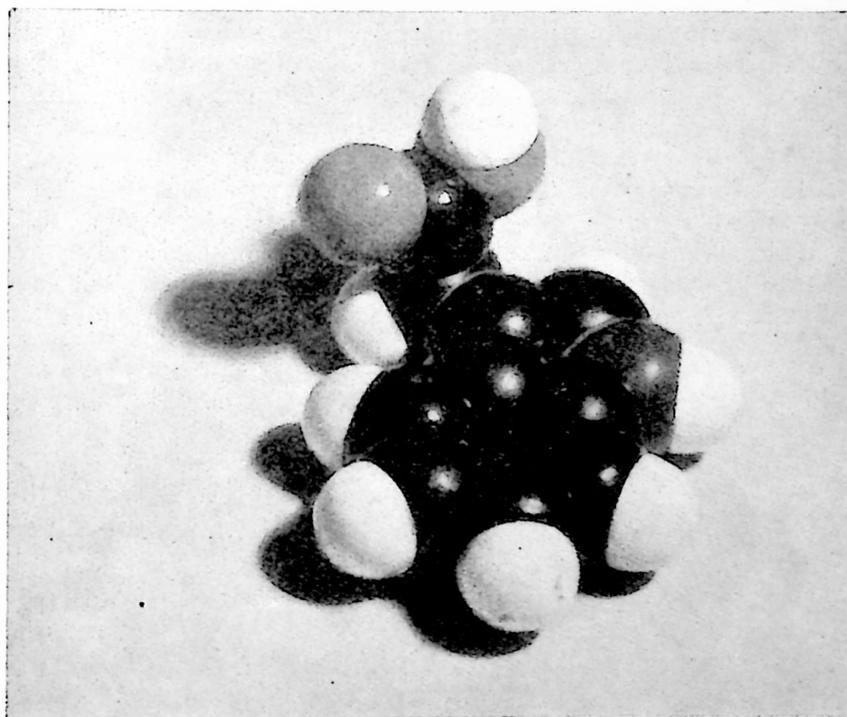
Molte critiche sono state mosse alle varie teorie di WENT, BONNER, WELDSTRA, ecc. ed altre ne sono state proposte; ma

qualunque possa essere l'interpretazione più aderente alla reale azione di queste sostanze attive sulla crescita, anello attivo e catena ne rappresentano sempre due fattori determinanti.

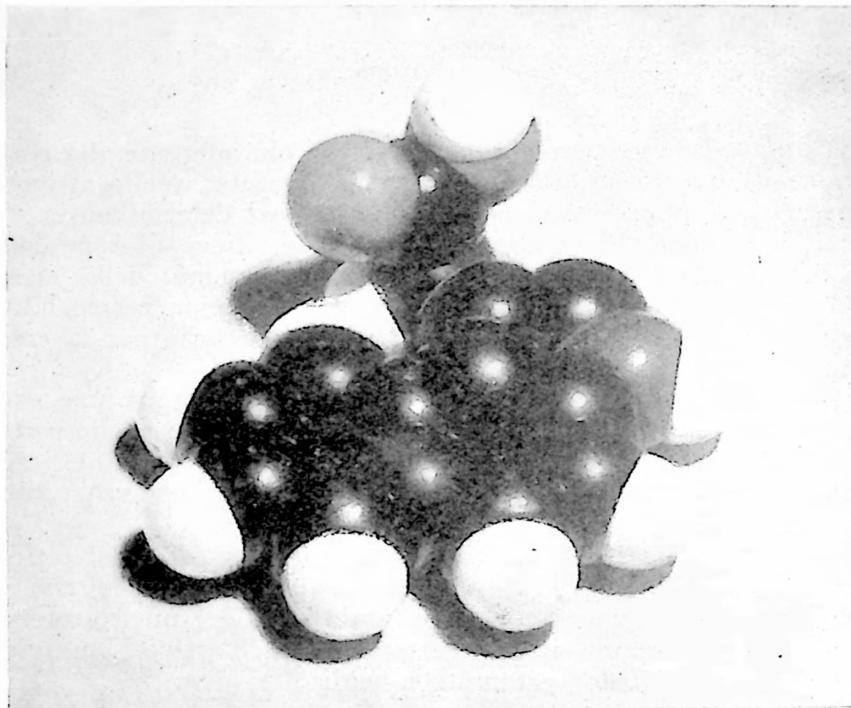
Ipotesi da molti accettata è quella che ritiene l'azione delle sostanze attive consistenti in un influenzamento della membrana protoplasmatica nel senso di una maggior permeabilità agli zuccheri ed alle sostanze nutritive necessarie per la crescita (5).

Precisamente, per questa azione sulla membrana una condizione basilare è la presenza nella molecola di un anello piatto dotato di forte attività di superficie che ne permetta un efficace adsorbimento sulla superficie limite su cui la sostanza agisce (membrana).

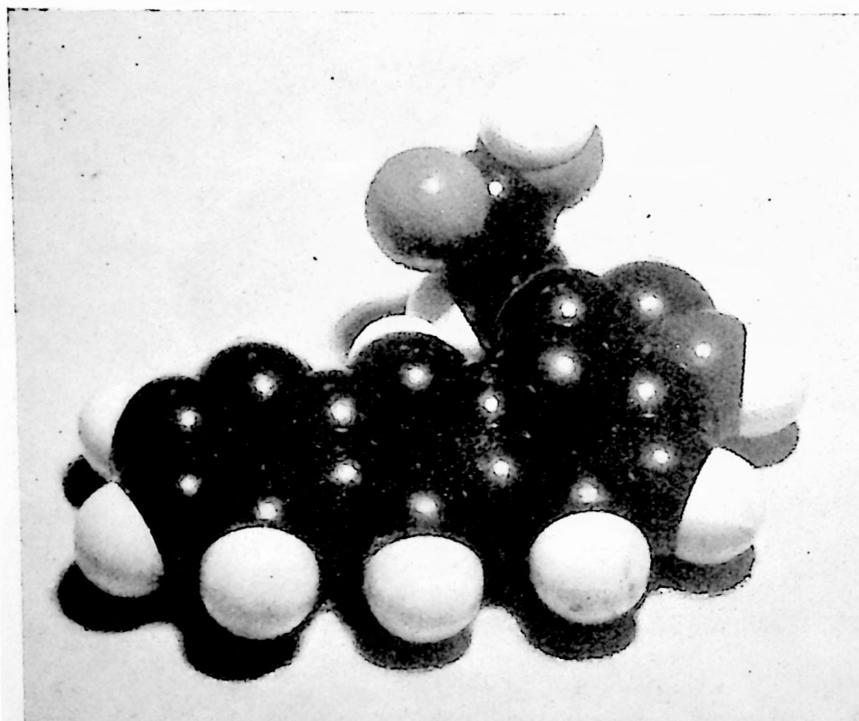
Le sottostanti fotografie dei modelli degli acidi indolacetico, 4,5-benzoindolacetico, 4,5-naftoindolacetico, mostrando che le caratteristiche strutturali (relazioni spaziali nucleo-catena, ecc.) che presiedono alla estrinsecazione dell'attività auxinica nel primo, si ripetono immutate negli altri due.



FOTOGRAFIE 1.<sup>a</sup>  
Acidi indolacetico.



FOTOGRAFIE 2.<sup>a</sup>  
Acidi 4,5-benzindolacetico.



FOTOGRAFIE 3.<sup>a</sup>  
Acidi 4,5-naftoindolacetico.

Senonchè, come abbiamo prima accennato, se da un lato l'entrata di un nuovo anello benzenico nel sistema indolico della ceteroauxina provoca un lieve aumento dell'attività principale nell'acido 4,5-benzoindolacetico, dall'altro ne diminuisce notevolmente le attività secondarie. L'ulteriore anellazione di altro gruppo benzenico porta praticamente all'inattività nell'acido 4,5-naftoindolacetico.

Non è nostra intenzione assegnare a queste osservazioni un valore determinante sull'influenza esercitata dal nucleo nella molecola attiva, ma è ovvio, ch'esse acquistano notevole interesse qualora vengano considerate nel quadro d'insieme offerto dal vario comportamento dei molti derivati dell'acido indolacetico già esaminati nei riguardi delle loro proprietà di sostanze attive di crescita.

Da esso risulta che è appunto l'acido indolacetico il prodotto nel quale proprietà primarie si fondono in un optimum non ancora raggiunto nei composti che la sintesi finora ci ha dato e dal quale sempre ci si discosta per anche piccole modificazioni del nucleo o della catena. Ed è significativo a tale naftalina porta all'acido che in questa serie dimostra l'attività massima e più completa, l' $\alpha$ -naftalinacetico. L'ulteriore espandersi del sistema anellare rispetta l'attività primaria nell'antracen-acetico e fenantren-acetico, ma ne deprime le proprietà secondarie, per portare poi all'inattività nel crisen-acetico (8).

In definitiva dunque, il vecchio concetto espresso da KOEPLI, THIMANN, WENT sull'interdipendenza tra nucleo e catena, che si delinea anzi ancor più racchiusa in limiti assai ristretti, rimane un punto fermo nello studio di queste sostanze all'infuori di ogni discussione in merito all'attendibilità o meno delle varie teorie avanzate per interpretarne l'azione di crescita.

### Parte sperimentale

I dosaggi dell'acido naftoindolacetico sono stati eseguiti usando per tutti i tipi di test la medesima soluzione tampone preparata come segue: 95 cc. di soluzione di fosfato monopotassico contenente gr. 9,078/1, più 5 cc. di soluzione di fosfato proposito ricordare che il variare delle attività con l'allungamento della catena o l'ampliarsi del nucleo trova varie analogie tra gli acidi con analoghe particolarità strutturali e dipendenti dall'anello benzenico.

L'acido fenilacetico, seppure in forma limitata, possiede una certa attività (6); l'allungarsi della catena laterale la fa decrescere e poi scomparire (7).

Ancora: il passaggio dell'anello benzenico al nucleo della bisodico, contenente gr. 11,876/1. Ne risulta una soluzione tampone fosfatica a pH 5,6.

Le prove sono state eseguite dosando contemporaneamente soluzioni scalari di acido indolacetico.

La soluzione madre dell'acido indolacetico a 100 mgr/1 ( $=10^{-4}$ ) è stata preparata sciogliendo mgr. 1 di acido in qualche goccia di alcole etilico e portando a 10 cc. con soluzione tampone fosfatica a pH 5,6.

La soluzione madre dell'acido naftoindolacetico a 100 mgr/1 ( $=10^{-4}$ ) è stata preparata sciogliendo mgr. 3 di acido con qualche goccia di alcole etilico e portando a 30 cc. con la soluzione tampone.

Dalle soluzioni madri sono state preparate le diluzioni scalari alle seguenti concentrazioni:

per acido naftoindolacetico: 100—10—1—0,1 mg/l

per acido indolacetico test avena Went:  $0,75 \cdot 10^{-7}$ — $0,5 \cdot 10^{-7}$ — $0,25 \cdot 10^{-7}$

$0,125 \cdot 10^{-7}$

test avena Bonner:  $6 \cdot 10^{-7}$ — $2 \cdot 10^{-7}$ — $6 \cdot 10^{-8}$

test pisello Went: 6,45—2,15—0,645—0,215  
0,0645 mg/l

Queste concentrazioni sono quelle a cui, di regola, sono usati i vari test.

#### Test avena Went

Eseguito su coleptili di avena *Victory* secondo la tecnica di WENT e THIMANN riportata in «Phytohormones» (9), in camera termostatica oscura alla temperatura di 29° e 90 % di umidità relativa.

TABELLA I

Acido indolacetico		Acido naftoindolacetico	
Concentraz. mg/l	Angolo medio di curvatura	Concentraz. mg/l	Angolo medio di curvatura
0	0		
$0,125 \cdot 10^{-7} = 0,0125$ mg/l	2°	$0,125 \cdot 10^{-7} = 0,1$ mg/l	0
$0,250 \cdot 10^{-7} = 0,025$ mg/l	3°4	$0,250 \cdot 10^{-8} = 1$ mg/l	0
$0,500 \cdot 10^{-7} = 0,05$ mg/l	5°3	$0,500 \cdot 10^{-8} = 10$ mg/l	0
$0,750 \cdot 10^{-7} = 0,075$ mg/l	5°5	$0,750 \cdot 10^{-4} = 100$ mg/l	0

I coleptili trattati con acido naftoindolacetico non hanno dato alcuna apprezzabile curvatura.

*Test avena Bonner*

E' stato eseguito immergendo sezioni (4/mm) di coleoptile di avena nelle soluzioni da saggiare e misurandone al microscopio, dopo 24 ore, l'allungamento.

TABELLA 2

Soluzione tampone	Acido indolacetico			Acido naftoindolacetico			
	$6 \cdot 10^{-8} = 2 \cdot 10^{-7} = 6 \cdot 10^{-7} =$ 0,06 mg/1 0,2 mg/1 0,6 mg/1			$10^{-7} = 10^{-8} = 10^{-5} = 10^{-4} =$ 0,1mg/1 1mg/1 10mg/1 100mg/1			
1	1,56	1,38	236	1	1,24	1,40	1,62

I pezzetti di coleoptile immersi in soluzioni di acido naftoindolacetico hanno subito un allungamento compreso, per le concentrazioni  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-5}$  (pari a 0,1—1—10 mg/1), fra l'allungamento in soluzione tampone e la soluzione a più bassa concentrazione di acido indolacetico; mentre per la concentrazione  $10^{-4}$  (pari a 100 mg/1) l'allungamento supera quest'ultimo di alcuni centesimi di millimetro. Riportiamo i valori degli allungamenti ottenuti nella seguente tabella concludendo per un esito praticamente negativo della prova.

*Test pisello Went*

E' stato eseguito su germogli di pisello (pisello nano precocissimo «quarantino d'Olanda» di Ingegnoli) secondo la tecnica descritta da WENT e THIMANN in «Phytohormones» ed il sistema di valutazione di WENT (10). I germogli immersi nella soluzione di acido naftoindolacetico hanno dato curvatura negativa.

TABELLA 3

Soluzione tampone	Acido indolacetico					Acido naftoindolacetico			
	0,0645 mg/1	0,215	0,645	2,15	6,45	0,1	1	10	100
0	0,2	0,4	2,8	5	3,8	0	0	0	0,4

### Riassunto

L'ampliamento del sistema anellare dell'acido 3-indolacetico ne modifica l'insieme delle attività di crescita, portando ad una limitazione delle attività secondarie nell'acido 4,5-benzoindol-3-acetico e all'inattività nell'acido 4,5-naftoindol-3-acetico. Tale osservazione viene discussa con riguardo a quanto finora è noto sui rapporti che nelle sostanze attive di crescita intercorrono tra nucleo e catena carbossilata.

### Summary

**On the variation of auxinic activity in the indol-3-acetic, 4,5,benzoindol-3-acetic and 4,5-naphto indol-3-acetic acids**

The increase of the ring system of the 3-indol acetic acid, modifies the ensemble growth activity, leading to a limitation of the secondary activity in the 4,5-benzo-indol-3-acetic acid and to the inactivity in the 4,5-naphtoindol-3-acetic acid. This remark is discussed with regard to whatever is known in the present about the relations between ring and carboxylated chain in the active growth substances.

### Bibliografia

- (1) S. BORGHERO, O. FINSTERLE : *Gazz. Chim. Ital.* **85**, 651, 1955.
- (2) G. MINARDI, G. B. CAPETTA : *Bull. Soc. Biol.*, **39**, 11, 1957.
- (3) A. GANDINI : *Atti. Acc. Lig. Sci. e Lett.* **II**, 66, 1942.
- (4) O. FINSTERLE : *Il Farmaco*, **X**, 1955.
- (5) H. WELDSTRA : *Enzymologie*, **11**, 137, 1944.
- (6) H. WELDSTRA : *Proceedings of a Symposium held at xye college (Università di Londra)* Luglio 1955.
- (6) A. J. HAAGEN SMIT, F. W. WENT : *Proc. Acad. Sci. Amsterdam*, **38**, 862, 1935.
- (7) J. B. KOEFLI, K. V. THIMANN, F. W. WENT : *J. Biol. Chem.*, **122**, 763, 1938.
- (8) P. W. ZIMMERMANN, F. WILCOXON : *Contrib. Byce Thompson Inst.*, **7**, 209, 1935.

- (9) L. J. ADAMS : *Plant Growth Substances*. Hill. Limited 62.
- (10) G. B. CAPETTA : Tesi di laurea, 1956.
- (11) H. WENT, K. V. THIMANN : *Phytormones*. Mac Millan New York, 1937.
- (12) G. NAUNDORF : *Las Fitormonas en agricultura*. Ed. Salvat. Madrid.

