

Invenția se referă la chimie, biotehnologie, viticultură, și anume la compuși, care posedă proprietăți pronunțate antibacteriene contra procesului de dezvoltare a cancerului la viță de vie.

Cancerul bacterian al viței de vie este o boală răspândită, care provoacă daune economice semnificative viticulturii industriale. Agentul cancerului bacterian al viței de vie este *Rhizobium vitis*, o bacterie oncogenă care diferă de alte specii de *Rhizobium* prin prezența plasmidelor Ti în ea. Ultimele au capacitatea de a exista mult timp latent (ascuns) în sistemul conductiv al plantelor, asigurând natura cronică și sistemică a bolii. În locurile de rănire e posibil contactul pereților celulelor microbiene și vegetale, iar procesele biochimice complexe asigură ca ADN-ul microorganismului să fie inserat în cromozomii celulei vegetale. Mai departe, sub influența genelor patogene, raportul auxinelor și citochininelor din celula vegetală este perturbat, ceea ce duce la creșterea necontrolată a celulelor și la formarea tumorilor.

Lipsa substanțelor chimice utile în lupta împotriva acestei boli a condus la faptul că în Republica Moldova boala este larg răspândită și apare în toate ariile de cultivare a viței de vie. Problemele legate de combaterea acestei boli sunt în prezent relevante pentru viticultură. În acest sens, o mare importanță o prezintă studiul remediilor în lupta împotriva bacteriilor oncogene care cauzează formarea tumorilor la vița de vie.

Metode de utilizare a remediilor sunt:

- menținerea în soluțiile acestor remedii a grefei și portaltouiurilor înainte de altoire pentru a preveni infecția întregului lot (sursa de infecție poate fi vița bolnavă, deoarece bacteria din butașii infectați difuzează în apă și infectează întregul lot);

- menținerea în soluțiile acestor remedii a rădăcinilor plantei pentru a preveni infecția secundară a viței de vie cu bacteriile oncogene ale solului (sursa de infecție a viței de vie poate fi solul).

Este cunoscut că în vederea prevenirii cancerului bacterian la vița de vie sunt utilizate biopreparate. De exemplu, tulpina *Pseudomonas aureofaciens* B-4117. Caracterul distinctiv al tulpinii este capacitatea sa de a inhiba creșterea agrobacteriei virulente care provoacă cancerul bacterian al viței de vie și al altor plante. Inhibă creșterea agrobacteriilor care conțin octopină și plasmide nopaline. Testele tulpinii au arătat că prelucrarea butașilor de struguri cu suspensii de celule a tulpinii duce la suprimarea formării tumorii pe plante [1].

Dezavantajul semnificativ al acestui produs biologic este efectul acestuia asupra aparatului genetic al plantelor și, prin urmare, cu utilizare sistematică, efectele pe termen lung nu sunt clare.

În calitate de cea mai apropiată soluție poate servi tulpina *Agrobacterium tumefaciens* N-4116, care exercită un efect antagonist împotriva agrobacteriilor virulente de tip nopalina și octopină. Tulpina propusă protejează plantele de vița de vie aproximativ la 77 - 79% [2].

Dezavantajul semnificativ al acestui produs biologic este efectul acestuia asupra aparatului genetic al plantelor și, prin urmare, cu utilizare sistematică, efectele pe termen lung nu sunt clare.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de substanțe care pot fi utilizate în calitate de inhibitori ai dezvoltării cancerului la vița de vie.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie se propune compusul 1,10-fenantrolină, (o-fenantrolina) - o substanță organică care aparține compușilor condensați heterociclici.

Rezultatul tehnic al soluției propuse este o reducere semnificativă a costului inhibitorului datorită simplității obținerii și funcționării acestuia, precum și lărgirea sortimentului de inhibitori ai dezvoltării cancerului la vița de vie. Utilizarea acestui compus în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la vița de vie nu a fost descrisă în literatura de specialitate.

Compusul 1,10-fenantrolină: producător – Sima-Aldrich, ≥99%, numărul CAS 66-71-7, are formula empirică $C_{12}H_8N_2$, masa moleculară 180,21 și temperatura de topire 114-117°C (<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/131377?lang=en®ion=RO>).

1,10-fenantrolina implică mai multe proprietăți structurale și chimice atrăgătoare: rigiditate, planitate, aromaticitate, bazicitate, capacitate de chelare. Acest lucru îl face un material de pornire versatil pentru chimia organică sintetică, anorganică și supramoleculară. Se cunoaște că poate fi utilizat la elaborarea diferitor reagenți biorganici (Peter G. Sammes, Gokhan Yahioğlu, 1,10-Phenanthroline: A Versatile Ligand, Chem. Soc. Rev., 1994, 327-334). Derivații de fenantrolină sunt adaptați pentru a furniza produse chimice utilizate în scopuri destul de diferite cum ar fi erbicide, sonde analitice sau farmaceutice. În unele cazuri datorită proprietăților avantajoase se utilizează în dispozitivele optoelectronice (Gianluca Accorsi, Andrea Listorti, K. Yoosaf, Nicola Armaroli, 1,10-Phenanthrolines: versatile building blocks for luminescent molecules, materials and metal complexes, Chem. Soc. Rev., 2009, 38, 1690-1700).

Invenția se explică prin desenele din figură, care reprezintă lățimea zonei de inhibare a creșterii bacteriene în vasele Petri.

Metodă de determinare a sensibilității *Rhizobium (Agrobacterium) vitis* la preparatele prin difuzie în agar. Această metodă se bazează pe capacitatea substanțelor (medicamente, antibiotice) de a difuza în grosimea agarului și a provoca o întârziere sau suprimare a creșterii microbului test. Pentru a studia proprietățile antagoniste ale medicamentelor cu ajutorul difuziei în agar, se folosește metoda puțurilor.

În vasele Petri sterile cu un diametru de 10 cm au fost turnate câte 20 mL de mediu nutritiv topit, mediul nutritiv fiind de cartofi. Pentru a obține o creștere bacteriană uniformă pe stratul de agar se adaugă 800 μL de suspensie de cultură bacteriană (două miliarde de bacterii într-un mL). Lichidul se distribuie uniform pe suprafață și se lasă timp de o oră. Apoi, în agar s-au tăiat puțuri în care s-au turnat 1-2 picături de agar topit pentru a forma fundul. În puțurile

obținute s-au aplicat diluții diferite ale preparatelor, după aceea vasele au fost plasate într-un termostat timp de 24 de ore. Gradul de sensibilitate al *Rhizobium vitis* la substanța activă a fost determinat și exprimat în milimetri (vezi figura). Zonele a căror diametru nu depășește 15 mm indică o sensibilitate slabă la substanța activă. Zonele de la 15 până la 25 mm indică sensibilitatea microorganismelor, în timp ce zonele foarte sensibile sunt caracterizate printr-un diametru mai mare de 25 mm. Drept control a servit tetraciclina, singurul antibiotic care inhibă dezvoltarea *Rhizobium vitis* (vezi tabelul).

În variantele obținute, în conformitate cu lățimea zonei de inhibare a creșterii bacteriene, ca și în varianta de control, se manifestă compusul 1,10-fenantrolină dizolvat în etanol (40 mm) sau dimetilsulfoxidă (32 mm).

Tabel

Gradul de sensibilitate al *Rhizobium vitis* față de 1,10-fenantrolină.

| N | Codul | Compoziția | Zonele de inhibare a dezvoltării bacteriilor ^a , mm | | |
|----|--------------------------|---|--|----|----|
| | | | 1 | 2 | 3 |
| 1. | SB-4ac | 10 mg 1,10-fenantrolină în EtOH | 40 | 35 | 25 |
| 2. | SB-4ab | 10 mg 1,10-fenantrolină în dmsO | 32 | 28 | 22 |
| 3. | SB-4a | 10 mg 1,10-fenantrolină în H ₂ O | 25 | 20 | 15 |
| 4. | Control: tetraciclina | | 34 | 30 | 25 |

^aPregătirea preparatelor: pregătirea inițială a soluțiilor – 10 mg în 300 μL;

1 – diluarea de 10 ori;

2 – diluarea de 50 ori;

3 – diluarea de 100 ori;

dmsO – dimetilsulfoxidă;

EtOH – etanol.

Avantajele oferite de invenție: compusul este solubil în etanol, dimetilsulfoxidă și parțial în apă, suprimă bacteriile oncogene care cauzează formarea de tumori la viță de vie.

Datorită proprietăților biologice pe care le manifestă compusul 1,10-fenantrolină, acesta prezintă interes biotehnologic în calitate de inhibitor al dezvoltării cancerului la viță de vie, fapt stabilit prin testarea efectului de inhibare a creșterii bacteriilor *Rhizobium vitis*.