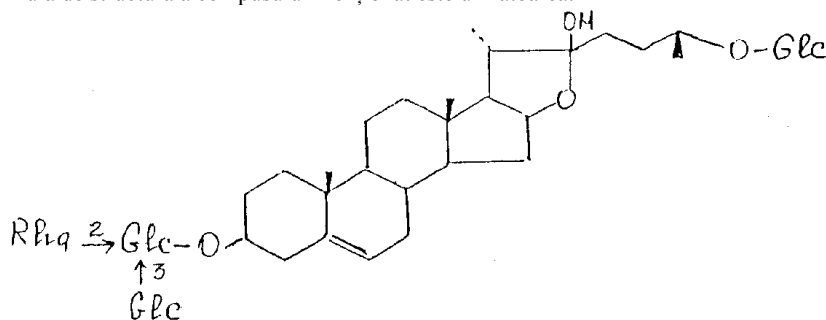


**Descriere:**

Invenția se referă la chimia bioorganică, în special la procedeul de obținere a triozidei (25R)-furost-5-en-3 $\beta$ , 22 $\alpha$ , 26-triol-26-O- $\beta$ -D-glucopiranozida, ce manifestă proprietăți fungicide și poate fi utilizată în agricultură.

Formula de structură a compusului menționat este următoarea:



în care Rha este ramnoză, Glc este glucoză.

Este cunoscut procedeul de extragere a triozidei neotigogeninei, care constă în degresarea semințelor de tomate cu cloroform, extragerea lor cu soluție de metanol de 70%, concentrarea extractelor până la rest apos, extracția cu butanol, concentrarea fracțiilor butanolice și cromatografierea lor ulterioară pe silicagel [1].

Procedeul cunoscut este complicat, deoarece pentru obținerea produsului final este necesară efectuarea câtorva operații cu un consum mare de solvenți organici toxici.

Sarcina invenției constă în simplificarea procedeului de obținere a triozidei (25R)-furost-5-en-3 $\beta$ , 22 $\alpha$ , 26-triol-26-O- $\beta$ -D-glucopiranozidei cu proprietăți fungicide prin reducerea numărului de operații.

Sarcina propusă poate fi realizată prin următorul procedeu: bulbii de *Lilium regale* sunt supuși extracției cu etanol de 70%, soluția obținută se concentrează până la rest apos și se cromatografiază pe coloane cu sefadex G-50. Procesul eluării se controlează în strat subțire de silicagel în sistemul cloroform-metanol-apă.

Prin urmare, procedeul poate fi realizat prin excluderea operațiilor de degresare, extragere cu butanol.

Rezultatul tehnic al invenției constă în simplificarea procedeului de obținere a triozidei furostanolice cu proprietăți fungicide pronunțate prin reducerea numărului de operații.

Substanța obținută reprezintă un praf de culoare galben-deschisă cu punctul de topire de 290-293°C,  $[\alpha]_D^{20}$  -88 (PY).

Formula bruto este C<sub>45</sub>H<sub>72</sub>O<sub>17</sub>, Rf=0,3 (în sistemul cloroform-metanol-apă (65:35:7)). Substanța este ușor solubilă în apă, piridină, dar mai slab în acetonă și cloroform; este higroscopică. În spectrul infraroșu este prezentă o fâșie de absorbție 3400 cm<sup>-1</sup> (grupa hidroxil), 900 cm<sup>-1</sup> (fâșie lată, caracteristică glicozidelor furostanolice).

Structura triozidei este confirmată cu ajutorul hidrolizei acide, metilării cu metanoliză ulterioară, oxidării cu periodat, hidrolizei fermentative. Toate produsele obținute au fost studiate prin cromatografiere pe hârtie (CH), cromatografiere în strat subțire (CSS), cromatografiere în gaz-lichid (CGL), spectroscopie în infraroșu (SIR), spectrometrie de masă și rezonanță nuclear-magnetică (RNM C<sup>13</sup>).

În urma hidrolizei acide complete a triozidei în hidrolizat s-a identificat agliconul steroidic-diosgenina, cu punctul de topire P.t. +208°C,  $[\alpha]_D^{20}$  -129 (PY), Rf=0,5 în sistemul cloroform-metanol (9:1),  $[M^+]$  414; spectrul IR:2645 ( $\Delta$ 5), 870, 900, 920-860 cm<sup>-1</sup> (fâșia de absorbție, caracteristică ciclului spirocetalic (25R)). Prin procedeul CGL în hidrolizat a fost detectat amestecul de ramnoză și glucoză în raportul de 1:3 sub formă de derivați acetici ai aldonitriților.

Consecutivitatea legării monozaharidelor în lanțul glucidic al glicozidei inițiale s-a determinat prin studierea progeninelor obținute după hidroliza parțială cu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de 1% în metanol. În monozidă a fost depistată glucoza, în biozida 1 - glucoza și ramnoza (1:1), în biozida 2 - doar glucoza.

Ca rezultat al metilării glicozidei inițiale am depistat metil-2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glucopiranozidă, metil-2,3,4-tri-O-metil-L-ramnopiranozidă metil-4,6-di-O-metil-D-glucopiranozida, iar ca rezultat al metanolizei biozidei 1 permetilate am identificat metil-2,3,4-tri-O-metil-L-ramnopiranozidă și metil-3,4,6-Di-O-metil-D-glucopiranozidă. Reiese, că catena glucidică se unește nemijlocit cu agliconul în poziția C<sub>3</sub>, ramnoza la C<sub>2</sub>, iar altă moleculă de glucoză la C<sub>3</sub> a glucozei, ce s-a unit cu agliconul.

Exemplul 1. Un kilogram de bulbi proaspeți de *Lilium regale* s-a mărunțit, după care a fost supus extracției în etanol de 70%, procedura repetându-se de 3 ori, folosind câte 11 alcool. Extractul obținut s-a concentrat până la rest apos și s-a cromatografiat pe coloana cu sefadex G-50, fracțiile obținute au fost adunate câte 10 ml. Controlul asupra separării a fost executat în CSS în sistemul cloroform-metanol-apă (65:35:7). Produsul din eprubetele cuprinse între numerele 30 și 45 a fost adunat și supus concentrării prin evaporare, obținându-se 0,3 g. Astfel s-a obținut produsul final, care prezintă 0,03% din greutatea materiei prime inițiale.

Determinarea activității biologice a triozidei (25 R) -furost-5-en-3 $\beta$ , 22 $\alpha$ , 26-triol-26-O- $\beta$ -D-glucopiranozidei (în continuare substanța I) a fost efectuată cu ajutorul culturilor pure ale ciupercilor *Fusarium culmorum* (B.G.Sm.) Sacc. (unul din provocatorii putregaiului de rădăcină la culturile cerealiere grâu, secară, triticale ș.a.) și *Phomopsis sojæ* Lehm (provocatorul arsurii tulpinilor de soia). În calitate de test-parametri au fost utilizați creșterea coloniilor și densitatea miceliului - indici destul de informativi pentru creșterea și dezvoltarea ciupercilor. Densitatea miceliului am determinat-o după scara de 3 trepte, elaborată de noi: 3-dezvoltare normală, 2-medie, 1-slabă. Rezultatele testării sunt prezentate în tabel. Datele prezentate indică asupra faptului că substanța I a manifestat o activitate inhibitorie pronunțată asupra ambelor ciuperci. În diapazonul de concentrații 10<sup>-2</sup>-10<sup>-4</sup>% glicozida a inhibat creșterea ciupercii *F.culmorum* cu 35-31%. După activitate substanța I a depășit analogul cel mai apropiat. De exemplu, la concentrația 10<sup>-4</sup>% diametrul coloniilor pe mediul cu glicozidă era cu 25,8% mai mic decât pe mediul cu moldstim (analogul structural) în aceeași concentrație. Efectul inhibitor al substanței I s-a constatat și în cazul densității miceliului. Acest indice era de 2,0-2,5 grade în cazul celui mai apropiat analog cu cele mai eficiente concentrații (10<sup>-2</sup>-10<sup>-4</sup>), iar în cel al substanței I -1,0-1,5 grade.

În intervalul de concentrații 10<sup>-2</sup>-10<sup>-4</sup>% substanța I a manifestat activitate fungicidă și față de ciuperca *Ph.sojæ*. În varianta cu analogul cel mai apropiat diametrul coloniilor era cu 6-12% mai mic față de control, iar densitatea miceliului la nivelul de 2,0-2,5 grade, iar pe mediul cu substanța I primul parametru era cu 12-14% mai jos față de martor, iar al doilea - la nivelul de 1,0 grad.

În baza rezultatelor obținute putem conchide că substanța I având un efect vădit inhibitor asupra ciupercilor *F.culmorum* și *Ph.sojae*, poate fi utilizată în cadrul măsurilor de protecție a culturilor cerealiere de putregaiul de rădăcină și a soiei de arsura tulpinii.

Tabelul 1

Date comparative ale activității substanței I și celui mai apropiat analog asupra creșterii și dezvoltării coloniilor de ciuperci *F.culmorum* și *Ph.sojae* in vitro

Nr. var.	Varianta	Concentrația, %	<i>F.culmorum</i>				<i>Ph.sojae</i>			
			Diametrul coloniilor, cm			Densi-tatea miceli-ului, grad	Diametrul coloniilor, cm			Densitatea miceliului, grad
			$\bar{X} \pm m_{\bar{x}}$	V, %	în raport cu martorul		$\bar{X} \pm m_{\bar{x}}$	V, %	în raport cu martorul	
1	Martor (must-agar)	-	7,67± 0,17	5,39	100,0	3,0	9,50± 0,0	0,0	100,0	3,0
2	Moldstim	10 <sup>-2</sup>	5,55±0,35*	15,41	72,4	2,5	8,38± 0,14*	4,0	88,2	2,0
3	"-	10 <sup>-3</sup>	5,40±0,37*	16,9	70,4	2,0	8,53± 0,03*	1,0	89,8	2,5
4	"-	10 <sup>-4</sup>	7,25±0,65	22,0	94,5	2,5	8,92±0,13*	3,7	93,9	2,5
5	"-	10 <sup>-5</sup>	7,42±0,48	15,7	96,7	3,0	9,30±0,00*	0,0	97,9	3,0
6	Substanța I	10 <sup>-2</sup>	4,97±0,38*	18,7	64,3	1,5	8,18±0,22*	6,6	86,1	1,0
7	"-	10 <sup>-3</sup>	4,07±0,70*	41,9	53,1	1,0	8,08±0,14*	4,2	85,1	1,0
8	"-	10 <sup>-4</sup>	5,27± 0,43**	20,2	68,7	1,5	8,37± ,14**	4,1	88,1	1,0
9	"-	10 <sup>-5</sup>	7,02± 0,61	21,2	91,5	2,5	8,75± 0,34	9,4	92,1	1,0

\* Deosebirea este distinctă de martor la nivelul 5%.

\*\* Deosebirea este distinctă de analogul cel mai apropiat la nivelul 5%.