

Descriere:

Invenția se referă la chimia bioorganică, și anume la obținerea glicozidelor furostanolice cu activitate fungicidă și poate fi utilizată în agricultură.

Este cunoscut procedeul de obținere a compușilor furostanolici care constă în următoarele: semințele de cartof se extrag cu etanol de 70%, extractele se concentrează, se decantează în cloroform, rezidul apos se decantează cu butanol-1. Extractele butanolice se concentrează prin evaporare în vid și suma obținută se trece prin coloana cu sefadex [1].

Procedeul cunoscut necesită un volum mare de muncă, multe reactive și solvenți.

Sarcina invenției constă în simplificarea procedurii de obținere a glicozidelor furostanolice ce posedă activitate sporită față de ciuperci și viruși.

Procedeul, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate mai sus prin aceea că bulbii proaspeți de *L.regale* se extrag cu apă clocotindă, la fierbere extractele se concentrează și se cromatografiază pe coloana cu sefadex G-50, utilizând în calitate de eluant apa distilată până la obținerea substanței finale. Procesul se controlează prin cromatografierea în strat subțire de silicagel în sistemul de dizolvanți cloroform: metanol: apă (63:35:5).

Rezultatul tehnic al invenției constă în simplificarea procedurii de obținere a glicozidelor furostanolice prin reducerea numărului de operații.

Exemplu de realizare a invenției

500 g de bulbi proaspeți de *L.regale* se mărunțesc, se extrag cu apă clocotindă la fierbere (1,5 l x 3 ori). Extractele se unesc, se concentrează prin evaporare până la volumul de 200 ml și se cromatografiază pe coloana cu sefadex G-50, utilizând apa distilată în calitate de eluant. Procesul de obținere a produsului final se controlează prin cromatografierea în strat subțire de silicagel (CSS) în sistemul CHCl₃:MeOH:H₂O (65:35:5), în calitate de dezvoltant se utilizează reactivul Erlich. Ca rezultat se obțin 0,5 g de sumă de glicozide furostanolice. Substanța obținută este un praf de culoare bej, ce se dizolvă ușor în apă, soluții apoase de etanol și metanol. În spectrul IR al sumei de glicozide sunt prezente benzi de absorbție cu 3400 cm⁻¹ (-OH), 900 cm⁻¹ - o fâșie lată, caracteristică furostanolilor. Structura chimică a sumei de glicozide stabilită prin procedee fizico-chimice cum ar fi reacția de hidroliză acidă completă, acțiunea enzimei β-glicozidaza cu cromatografierea în strat subțire de silicagel în prezența martorilor derivaților obținuți, cromatografia gaz-lichid, spectroscopia în raze infraroșii și ultraviolete, spectrul de rezonanță magnetică nucleară (RMN¹³C).

Hidroliza acidă completă a sumei de glicozide a permis identificarea în hidrolizat a agliconului diosgenina cu T_{top} - 208°C, [α]_D²⁰ - 129° (C=1,0, CH₃OH), [M⁺] 414 m/z, R_f=0,42, spectrul IR (KBr), max, cm⁻¹: 2845, 987, 920, 900, 850 [benzi caracteristice ciclului spirocetalic (25R)]. În filtrat, cu ajutorul cromatografierii pe hârtie, se detectează monozaharidele glucoza și ramnoza în raportul 4:2.

Activitatea biologică a sumei de glicozide furostanolice se determină prin testarea influenței lor asupra tutunului în faza de semințe, răsăd și asupra plantelor mature.

Experiențele în sere se pun în 4-5 variante de concentrații de glicozide pe soiul Moldavski 456. Semințele de tutun se tratează cu suma de glicozide timp de 24 de ore la temperatura camerei, apoi se introduc în termostat la temperatura de 27-28°C. În calitate de etalon la aprecierea activității antivirotoice se utilizează formalina de 2%, iar a activității fungicide - fundazol de 0,2%, analogul structural fiind ecostim pentru ambele teste.

Rezultatele testării sunt prezentate în tabelele 1,2,3. Datele prezentate în tabelul 1 arată că substanța studiată în concentrație de 0,005-0,05% inhibă dezvoltarea ciupercii putregaiului negru al rădăcinilor de 7-10 ori mai mult în comparație cu martorul și de 2 ori mai mult în comparație cu etalonul (fundazol 2%).

Plantulele răsăr cu 2-3 zile mai devreme și toate odată. Răsadul obținut este viguros și se apreciază cu nota 4-5 (tabelul 2).

Aprecierea răsadului la atacarea de către ciuperca *Tielavopsis bazicola* (Berk) Ferr pe variante se face conform procedurii Grusevoi modificat de Serban și Grosu.

Pentru aprecierea efectului antivirotic al sumei de glicozide experiențele se testează pe fond infecțios. Datele din tabelul 3 confirmă micșorarea procentului de atacare a plantelor de către virusul mozaicului tutunului aproximativ de 45 de ori în comparație cu martorul (tabelul 3).

Tabelul 1

Influența tratării semințelor cu suma de glicozide asupra intensității dezvoltării ciupercii putregaiului negru al rădăcinilor

Varianta	Concentrația, %	Intensitatea dezvoltării putregaiului negru, %
1. Apă (martor)	-	87,3
2. Fundazol (etalon)	0,2	53,4
3. Ecostim (analog structural)	0,05	20,1
4. Suma de glicozide	0,5	15,3
-"	0,05	6,1
-"	0,01	4,4
-"	0,005	6,1
-"	0,001	10,9

Tabelul 2
Acțiunea sumei de glicozide asupra dezvoltării plantulelor de tutun

Varianta	Concen- trația,%	Data		Faza		Maturiza- rea răsă- dului	Aprecie- rea răsă- dului, no- ta
		semănatul	răsăritul	"cruciulițe"	"urechiușe"		
Apă (martor)	-	24.03.95	3.04.95	18.04.95	26.04.95	18.05.95	3
Fundazol (etalon)	0,2	24.03.95	3.04.95	"-	"-	18.05.95	3
Ecostim (analog structural)	0,5	24.03.95	2.04.95	7.04.95	23.04.95	15.05.95	4
	0,05	24.03.95	2.04.95	"-	"-	"-	4
	0,01	24.03.95	2.04.95	"-	21.04.95	13.05.95	4
	0,005	"-	3.04.95	6.04.95	21.04.95	14.05.95	4
	0,001	"-	3.04.95	8.04.95	22.04.95	15.05.95	4
Suma de glicozide	0,5	24.03.95	31.03.95	8.04.95	22.04.95	11.05.95	4-5
	0,05	"-	29.03.95	5-6.04.95	18.04.95	6.05.95	6
	0,01	"-	1.04.95	6.04.95	22.04.95	12.05.95	5
	0,005	"-	1.04.95	8.04.95	23.04.95	12.05.95	4-5
	0,001	"-	2.04.95	7-8.04.95	23.04.95	11.05.95	5

Tabelul 3
Influența tratării semințelor cu suma de glicozide asupra evaluării virusului mozaicului tutunului (fond infecțios)

Varianta	Concen- trația, %	I evidență		a II-a evidență		a III-a evidență	
		atacarea plantelor, %	T.R. și G.A., nota	atacarea plantelor, %	T.R. și G.A., nota	atacarea plantelor, %	T.R. și G.A., nota
Apă (martor)	-	89,8	M-4-S	93,4	M-4-S	100,0	M-4-S
Formalină 2% (etalon)	2,0	78,5	M-4-S	85,7	M-4-S	93,8	M-4-S
Ecostim (analog structural)	0,5	15,1	3-Sl.r.	18,3	3-Sl.r.	20,1	3-Sl.r.
	0,05	11,4	3-Sl.r.	14,5	3-Sl.r.	15,4	3-Sl.r.
	0,01	7,3	2-R	10,3	2-R	10,3	2-Sl.r.
	0,005	10,9	2-r	11,4	3-Sl.r.	12,5	3-Sl.r.
	0,001	15,7	3-Sl.r.	17,5	3-Sl.r.	15,7	3-Sl.r.
Suma de glicozide	0,5	4,5	I-Im	5,8	2-R	6,5	2-R
	0,05	2,1	I-Im	2,4	I-Im	2,9	I-Im
	0,01	1,3	I-Im	1,5	I-Im	1,5	I-Im
	0,005	2,0	I-Im	2,3	I-Im	2,7	I-Im
	0,001	2,4	I-Im	2,9	I-Im	3,1	I-Im

Nota: M-mozaica; Sl.r. - slab rezistent; S - sensibil; R-rezistent;
Im - imunitate; T.R. - tip de rezistență; G.A. - grad de afectare;
X- la evidențele a II-a și a III-a se ține cont și de frunzele de pe copileți.