



MD 3113 G2 2006.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 3113⁽¹³⁾ G2

(51) Int. Cl.: A01N 65/00 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

C08H 5/00 (2006.01)

C08F 8/06 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2006 0047 (22) Data depozit: 2006.02.08</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2006.08.31, BOPI nr. 8/2006</p>
<p>(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p> <p>(72) Inventatori: LUPAȘCU Lucian, MD; SAȘCO Elena, MD; LUPAȘCU Tudor, MD; RUDIC Valeriu, MD</p> <p>(73) Titulari: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p>	

(54) Compus ce posedă activitate fungitoxică pentru ciuperca *Fusarium oxysporum* Snyder et Hans

(57) Rezumat:

Invenția se referă la agricultură, în particular la un compus ce posedă activitate fungitoxică pentru ciuperca *Fusarium oxysporum* Snyder et Hans.

Se propune aplicarea enotaninului hidrosolubil, obținut la modificarea chimică a enotaninului cu peroxid de hidrogen în calitate de compus ce posedă

activitate fungitoxică pentru ciuperca *Fusarium oxysporum* Snyder et Hans.
Revendicări: 1

10

MD 3113 G2 2006.08.31

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, în particular la un compus ce posedă activitate fungitoxică pentru ciuperca *F.oxysporum*.

Se cunosc preparate sintetice utilizate pentru combaterea ciupercilor *Fusarium* [1]. Dezavantajul acestora constă în aceea că nu posedă acțiune specifică pentru diverse specii *Fusarium*, au un preț de cost mare și se descompun ușor sub acțiunea patogenilor sau condițiilor de mediu.

Mai sunt cunoscute taninuri cu activitate antimicrobiană [2]. Dezavantajul acestor compuși constă în slaba solubilizare în apă și în aceea că spectrul de ciuperci, asupra cărora compușii dați manifestă activitate fungitoxică nu include ciupercile *Fusarium sp.*

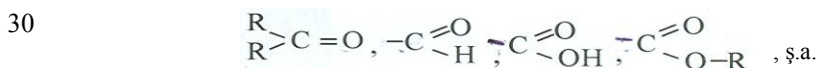
Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în lărgirea spectrului de substanțe biologice active din clasa taninurilor, cu efect fungitoxic pentru ciuperca *Fusarium oxysporum* Snyd.et Hans.

Problema se soluționează prin aceea că se propune aplicarea enotaninului hidrosolubil (în continuare Enoxil), obținut la modificarea chimică a enotaninului cu peroxid de hidrogen în calitate de compus ce posedă activitate fungitoxică pentru ciuperca *Fusarium oxysporum* Snyd. Et Hans.

Rezultatul invenției constă în depistarea unui tanin hidrosolubil cu activitate fungitoxică pronunțată pentru unii patogeni cu impact negativ asupra culturilor agricole.

Procedul de obținere a enotaninurilor modificate chimic, utilizate în invenție, include tratarea enotaninurilor cu peroxid de hidrogen în raport masic de, respectiv, 1 ... (3...6), timp de 7...15 min, la temperatura de 70...100°C, după care soluția se evaporă la temperatura de 40...65°C până la o masă constantă.

Ca rezultat, peroxidul de hidrogen rupe lanțul polimeric al enotaninurilor formând compuși noi care conțin grupe funcționale carboxilice, peroxidice, alcoolice, fenolice, aldehydice, cetonice, esterice. Prin acest procedeu se obțin compuși organici solubili în apă cu gust astringent. Soluția apoasă de enotaninuri de 2% are pH = 2,1...2,4. Prezența grupelor carboxilice a fost demonstrată prin titrări bazice. Prezența grupărilor polare acide, peroxidice, alcoolice, fenolice, aldehydice, cetonice, esterice în enotaninurile solubile în apă modificate a fost demonstrată și prin spectroscopia IR. Astfel, în rezultatul procesului de oxidare, conform benzilor de absorbție $\nu(\text{CH})$ ale grupelor CH_3 – și CH_2 – din componența preparatului inițial (neoxidat), aceste grupe practic dispar, oxidându-se în grupele:



Aceasta se confirmă prin lărgirea considerabilă a benzii de absorbție $\nu(\text{C-O})$ cu maximumul de absorbție $\sim 1744 \text{ cm}^{-1}$, având și 3...4 umere ($1650...1750 \text{ cm}^{-1}$), fapt ce indică formarea aldehydelor, cetonelor, acizilor carboxilici și/sau esterilor.

Odată ce această bandă de absorbție în spectrul IR are și umere, se lărgiște în intervalul de la 1750 până la 1800 cm^{-1} . Aceasta se explică, probabil, prin faptul că în zona respectivă se manifestă peroxizi alchilici : $\nu(\text{C-O-O}) \sim 1795$ și $\sim 1820 \text{ cm}^{-1}$ ($\Delta\nu = 25 \text{ cm}^{-1}$) și/sau peroxizi aromatici: $\nu(\text{C-O-O}) \sim 1755$ și $\sim 1780 \text{ cm}^{-1}$ ($\Delta\nu = 25 \text{ cm}^{-1}$). În favoarea acestei presupuneri indică atât apariția benzilor de absorbție $(\text{O} - \text{O}) : \nu(\text{O} - \text{O}) \sim 880 \text{ cm}^{-1}$ precum și referitoare la grupa peroxidică la ~ 600 și 470 cm^{-1} , cât și dispariția benzilor de absorbție $\nu(\text{CH})$ ale grupelor CH_3 , CH_2 etc. Spectrele IR măsurate pentru enotaninurile modificate mai indică benzi la valoarea de 3425 cm^{-1} care corespund grupelor OH parțial asociate. De asemenea, se manifestă benzi la valori de 1196 cm^{-1} , care corespund grupelor OH aromatice.

Este cunoscută folosirea enotaninului hidrosolubil în medicină, medicina veterinară și agricultură (MD 3125 F1 2006.08.31), dar nu este cunoscută aplicarea lui în calitate de compus ce posedă activitate fungitoxică pentru ciuperca *F.oxysporum*.

Exemplu de realizare a invenției

Procedul de obținere a enotaninurilor modificate chimic, utilizate în invenție include tratarea enotaninurilor cu peroxid de hidrogen în raportul masic de, respectiv, 1...(3...6), timp de 7...15 min, la temperatura de 70...100°C, după care soluția se evaporă la temperatura de 40...65°C până la o masă constantă.

Acțiunea fungitoxică a Enoxilului a fost cercetată prin cultivarea ciupercii *F.oxysporum*, izolată din plantă bolnavă de grâu pe mediu must-agar ce conținea Enoxil în concentrațiile $10^{-6}...10^{-1}\%$. În calitate de martor a servit mediul must-agar, nesuplimentat cu Enoxil, iar de cea mai apropiată soluție enotaninurile solubile în alcool. Efectul enotaninului și Enoxilului asupra creșterii ciupercii *F.oxysporum* a fost stabilit după diametrul coloniilor (mm) ciupercii la a 3, 5, 7, 10-a zi de cultivare în cutii Petri, la temperatura de 20...22°C. Experimentul a fost efectuat în 10 repetiții. Rezultatele au fost

MD 3113 G2 2006.08.31

4

prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA. Veridicitatea deosebirilor dintre variante a fost supusă testului t. Rezultatele obținute sunt incluse în tab. 1 și 2.

5

Tabelul 1

Date comparative cu privire la influența enotaninului nemodificat și Enoxilului asupra creșterii ciupercii *F.oxysporum in vitro* (a 3-a și a 5-a zi de cultivare)

Varianta, concentrația (%)	Diametrul coloniilor în a 3-a zi de cultivare			Diametrul coloniilor în a 5-a zi de cultivare		
	$x \pm m_x$, mm	V,%	% față de martor	$x \pm m_x$, mm	V,%	% față de martor
Enotanin, 10^{-6}	23,2±0,9*	9,6	89,9	32,8±1,3*	9,7	85,2
Enotanin, 10^{-5}	22,8±1,5*	15,8	88,4	33,3±1,9*	14,2	86,5
Enotanin, 10^{-4}	22,5±0,6*	6,8	87,2	36,2±1,4	9,6	94,0
Enotanin, 10^{-3}	23,8±0,8*	8,6	92,2	41,0±1,3*	7,9	106,5
Enotanin, 10^{-2}	24,8±0,8*	8,2	96,1	37,3±1,2	7,9	96,9
Enotanin, 10^{-1}	23,8±1,0*	10,1	92,2	36,8±1,1	7,4	95,6
Enoxil, 10^{-6}	23,0±1,0*	10,3	89,1	38,5±2,4	15,0	100,0
Enoxil, 10^{-5}	21,8±1,1*	12,8	84,5	34,8±0,7*	5,3	90,4
Enoxil, 10^{-4}	23,7±0,8*	7,8	91,9	40,3±1,8	11,1	104,7
Enoxil, 10^{-3}	22,7±1,0*	10,7	88,0	40,3±2,3	13,9	104,7
Enoxil, 10^{-2}	20,5±0,9*	10,6	79,4	36,5±1,7	11,4	94,8
Enoxil, 10^{-1}	18,3±0,3*	4,5	70,9	28,3±1,5*	13,2	73,5
Martor (must-agar)	25,8±1,1	10,5	100,0	38,5±0,8	5,1	100,0

10

- suport statistic pentru testul t la nivelul $p < 0,05$

Tabelul 2

15

Date comparative cu privire la influența enotaninului nemodificat și Enoxilului asupra creșterii ciupercii *F.oxysporum in vitro* (a 7-a zi de cultivare)

Varianta, concentrația (%)	Diametrul coloniilor în a 7-a zi de cultivare			Diametrul coloniilor în a 10-a zi de cultivare		
	$x \pm m_x$, mm	V,%	% față de martor	$x \pm m_x$, mm	V,%	% față de martor
Enotanin, 10^{-6}	43,7±0,8*	4,7	84,5	60,8±1,1*	4,6	85,6
Enotanin, 10^{-5}	48,0±1,8*	9,1	92,8	69,3±2,2	7,9	97,6
Enotanin, 10^{-4}	49,7±1,9	9,6	96,1	66,0±1,0*	3,7	93,0
Enotanin, 10^{-3}	50,0±0,7	3,6	96,7	71,7±1,3	4,5	102,4
Enotanin, 10^{-2}	47,0±1,1*	5,9	90,9	62,2±3,0*	12,0	87,6
Enotanin, 10^{-1}	49,5±1,6	8,2	95,7	66,7±2,2*	8,2	93,9
Enoxil, 10^{-6}	50,3±1,6	7,6	97,3	72,7±2,4	8,1	102,4
Enoxil, 10^{-5}	44,3±0,9*	5,1	85,7	62,7±0,8*	3,1	88,3
Enoxil, 10^{-4}	51,8±1,1	5,2	100,2	73,8±1,9*	6,4	103,9
Enoxil, 10^{-3}	49,7±1,8	9,1	96,1	72,3±2,8	9,5	101,8
Enoxil, 10^{-2}	47,0±1,2*	6,3	90,9	67,8±1,4*	5,0	95,5
Enoxil, 10^{-1}	32,8±1,7*	12,9	63,4	37,7±2,9*	1,9	53,1
Martor (must-agar)	51,7±1,1	5,1	100,0	71,0±0,9	3,1	100,0

20

- suport statistic pentru testul t la nivelul $p < 0,05$

În tabel, după cum se vede din datele prezentate, compusul din cea mai apropiată soluție și Enoxilul au manifestat acțiune reprimantă de diferită intensitate asupra creșterii liniare a ciupercii *F.oxysporum*, fenomen determinat în mare parte de concentrația substanței. Astfel, în a 3-a zi de creștere, în intervalul de concentrații $10^{-6} \dots 10^{-1}\%$, diametrul coloniilor de *F.oxysporum* a fost cu 3,9...11,6% mai mic, decât în varianta martor, iar pentru varianta cu Enoxil acest indice a fost la nivelul 8,1...29,1%. S-a constatat,

MD 3113 G2 2006.08.31

5

de asemenea, că la cea mai eficientă concentrație de Enoxil ($10^{-1}\%$), la a 5, 7 și 10-a zi de cultivare diametrul coloniilor constituia 73,5; 63,4 și 53,1% față de valorile variantei martor. Asemenea putere de reprimare n-a fost manifestată de compusul din cea mai apropiată soluție în nici una din concentrațiile cercetate. De remarcat, că în zilele 3, 5, 7 și 10 de cultivare diametrul coloniilor, în % față de martor, în varianta cu Enoxil $10^{-1}\%$ constituie 70,9; 73,5; 63,4 și 53,1%, respectiv, ceea ce denotă încă odată că Enoxilul reprimă puternic creșterea ciupericii *F.oxysporum*.

Deci, Enoxilul are acțiune fungitoxică pentru ciuperca *F.oxysporum* mult mai pronunțată decât enotaninul nemodificat și poate fi utilizat cu succes în agricultură pentru protecția grâului comun de toamnă de fuzarioza provocată de *F.oxysporum*.

10

(57) Revendicare:

15 Aplicarea enotaninului hidrosolubil, obținut la modificarea chimică a enotaninului cu peroxid de hidrogen în calitate de compus ce posedă activitate fungitoxică pentru ciuperca *Fusarium oxysporum* Snyd. et Hans.

20

(56) Referințe bibliografice:

1. Акименко Л.И., Мережинский Ю.Г., Малецкая О.С., Иванищев В.Н. Роль почвенных микроорганизмов в деградации пенитрана при комплексировании его с другими пестицидами. Микробиологический журнал, 1994, V. 56, №2, p. 26
2. Latte K.P., Kolodziej H. Antifungal Effects of Hydrolysable Tannins and Related Compounds on Dermatophytes Mould Fungi and Yeasts. Z. Naturforsch., 2000, p. 467...472

Șef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

BANTAȘ Valentina

Redactor:

LOZOVANU Maria