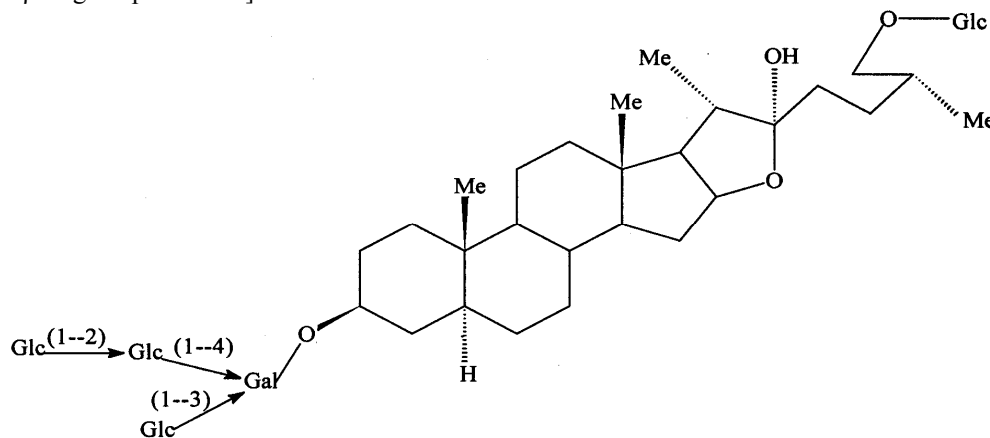


Invenția se referă la o substanță biologic activă nouă din clasa glicozidelor steroidice tip furostanolic, care sporește legarea semințelor la hibridizare la distanță și poate fi aplicată în selecție la încrucișarea grâului comun de toamnă cu seară pentru obținerea noilor forme de triticale.

Se cunoaște utilizarea de glicozide steroidice obținute din rădăcinile de vinete (somalongozidei) pentru sporirea legării semințelor la încrucișarea grâului comun de toamnă cu seară [1]. Însă regulatorul cunoscut nu posedă eficacitatea suficientă.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea producției semințelor hibride la încrucișarea grâului comun de toamnă cu seară și extinderea arsenalului de substanțe, care sporesc legarea semințelor la hibridizare la distanță.

Se propune o glicozidă steroidică nouă de tip furostanolic 3-O-[[β-D-glucopiranozil(1→2)-β-D-glucopiranozil(1→4)]-β-D-glucopiranozil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă}-(25R)-5α-furostan-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă] cu formula structurală:



unde Glc – glucoza,

Gal – galactoza,

care sporește legarea semințelor la hibridizare la distanță.

Hiosciamozida G reprezintă o glicozidă steroidică de tip furostanolic nouă, care nu este descrisă în literatura de specialitate. Proprietățile fizico-chimice ale substanței: $t_{top} = 180^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = 69^{\circ}(1,0; \text{H}_2\text{O})$, spectrul IR 3100, 900 cm^{-1} (o bandă lată, caracteristică pentru glicozidele șirului furostanolic). Brut formula: $\text{C}_{57}\text{H}_{96}\text{O}_{29}$.

Hiosciamozida G reprezintă un praf de culoare cafeniu deschisă, se dizolvă bine în apă, alcoolii (etilic, metilic, butilic), nu se dizolvă în acetonă, cloroform, eter dietilic.

La hidroliza acidă totală a hiosciamozidei G prin metode fizico-chimice a fost identificată tigogenina în calitate de aglicon: $t_{top} = 202\text{...}203^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = 65^{\circ}(1,0; \text{CHCl}_3)$, $[\text{M}]^+ = 416$, spectrul IR 965, 920<900, 815 cm^{-1} . Benzile de absorbție 920<900 confirmă prezența lanțului spirocetalic al șirului 25R. Datele spectrale C^{13}RMN ale agliconului extras corespund cu datele din literatură pentru tigogenină.

Deoarece hiosciamozida G este glicozidă din șirul furostanolic, agliconul ei nativ este (25R)-5α-furostan-3β,22α,26-triol.

Cu ajutorul cromatografiei pe hârtie și cromatografiei gaz-lichid a acetaților derivați aldonitrici ai monozaharidelor, au fost identificate glucoza și galactoza în raport 4:1.

Consecutivitatea legării monozaharidelor în lanțul glucidic al glicozidei și succesiunea de unire a monozaharidelor între ele a fost stabilită prin hidroliza acidă parțială, reacția de metilare și matanoliza derivaților permetilici, cât și prin reacția de oxidare perioadă a hiosciamozidei G.

În baza rezultatelor obținute prin metilare și hidroliza parțială a hiosciamozidei G s-a constatat că lanțul glucidic al hiosciamozidei G este ramificat; două molecule de glucoză sunt legate la galactoza în porțiile 3 și 4, galactoza fiind nemijlocit legată de aglicon. O moleculă de glucoză terminală este unită în poziția 3, iar altă moleculă de glucoză în poziția 4 a galactozei, la care este unită a doua moleculă terminală de glucoză prin legătura (1→2).

O moleculă de glucoză este unită de aglicon în poziția C26, ceea ce s-a stabilit prin scindarea fermentativă a glicozidei. În urma acesteia molecula de glucoză din poziția V26 a agliconului ușor se rupe și glicozida se transformă în analogul său spirostanolic. Datele spectrale C^{13}RMN au confirmat această structură. În spectru s-au observat deplasări chimice în câmp slab ale atomilor C3 și C4 ai moleculei de galactoza, a atomului C2 al moleculei de glucoză și C4 de la a doua glucoză, ale atomilor C3 și C26 ai agliconului (efectul glicozilării).

Tipurile de substituție în resturile monozaharidice și aglicon s-au stabilit de asemenea în urma analizei spectrale ENO (efectul nuclear Overhauser) în sistemul de coordonate (ROESY).

În spectrul hiosciamozidei G s-au evidențiat picuri de corelație în coordonate a deplasărilor chimice ale H1 galactopiranozidei și H3 a agliconului, H1 a glucozei terminale și H3 a galactopiranozidei, H1 a primei glucopiranozide și H4 a galactopiranozidei, H1 a glucopiranozidei a doua și H2 a primei glucopiranozide, H1 a glucopiranozidei a treia și H4 a glucopiranozidei a doua, H1 a glucopiranozidei a doua terminale și H26 a agliconului.

Rezultatul invenției constă în aceea că a fost obținută o glicozidă steroidică nouă, care sporește legarea semințelor la hibridizare la distanță mai pronunțată în comparație cu cea mai apropiată soluție; concomitent contribuie la

extinderea asortimentului de glicozide steroidice care pot fi utilizate în agricultură în calitate de substanțe biologice active de proveniență naturală.

Procesul de obținere a hiosciamozidei G

3-O- {[β-D-glucopiranozil(1→2)-β-D-glucopiranozil(1→4)]-[β-D-glucopiranozil(1→3)]-β-D-galactopiranozidă}-(25R)-5α-furostan-3β,22α,26-triol-[26-O-β-D-glucopiranozidă] – hiosciamozida G a fost obținută prin următorul procedeu: semințele de *Hyosciamus niger* L. (0,5 kg) uscate la aer liber au fost mărunțite, degresate cu cloroform (2 ori x 1 l). Extractele obținute au fost unite, evaporate până la soluție apoasă, care a fost extrasă cu butanol (4 ori x 150 ml). Extractele butanolice concentrate în condiții de vid până la sediment uscat au fost diluate în 50 ml de etanol. Din soluția obținută au fost precipitate glicozidele sumare cu acetonă. Sedimentul a fost separat prin filtrare și uscat în condiții de vid. Masa glicozidelor totale obținute a constituit 13,6 g sau 2,71% din masa materiei inițiale. Prin aplicarea filtrării pe gel pe Sephadexul G-25 și cromatografierii pe o coloană cu silicagel L 40/100 □m suma de glicozide a fost separată în fracții a câte 10 ml. Controlul asupra separării a fost efectuat prin cromatografierea în strat subțire și revelarea componentilor cu reacție Scanie și Ehrlich. S-au obținut 0,14 g de hiosciamozidă G, ce constituie 0,28% din greutatea produsului vegetal inițial. Somelongozida a fost obținut[din rădăcinile de vinete [SU 1473317A1 1988.12.15].

Exemplu de realizare a invenției

În experiența se utilizează combinația de hibridare a grâului comun de toamnă (*Triticum aestivum* – soiul Miraj) cu secara (*Secale cereale* – soiul Haricovscaia 55).

Se efectuează eliminarea anterelor din florile de grâu (castrarea firmei materne). Peste 3...4 zile după castrare (pe măsură ce pistilul se maturizează) florile se tratează cu soluție apoasă de glicozide steroidice extrase din semințe de *Hyosciamus niger* L., în concentrații de 0,001; 0,005; 0,01 și 0,05% (invenția).

Peste 5...10 min după tratare (perioada în care are loc absorbția completă a soluției), se aplică spicele de secară cu polen (forma paternă). Se utilizează concentrațiile 0,05...0,001% soluție apoasă de glicozide steroidice extrase din rădăcini de pătlăgele (Somelongozidă).

Florile tratate cu apă distilată au servit drept martor. Rezultatele studierii impactului glicozidei hiosciamozidă G asupra capacității de legare a semințelor la hibridizare la distanță (Miraj X Haricovscaia 55) sunt prezentate în tabel.

Tabel

Influența glicozidelor steroidice asupra legării boabelor la hibridizare la distanță dintre grâul comun de toamnă (soiul Miraj) cu secară (soiul Haricovscaia 55)

Nr. d/o	Varianta	Flori polenizate, buc.	Boabele obținute, buc.	% de prindere	% față de martor
1	Martor, apă distilată	82,0	2	2,44	100,0
2	Hiosciamozidă G – 0,05%	84,0	13	15,47	634,02
3	Hiosciamozidă G – 0,01%	84,0	22	26,19	1073,36
4	Hiosciamozidă G – 0,005%	84,0	10	11,9	487,7
5	Hiosciamozidă G – 0,001%	86,0	15	17,44	714,75
6	Somelongozidă – 0,05%	84,0	2	2,4	97,5
7	Somelongozidă – 0,01%	78,0	2	2,6	104,9
8	Somelongozidă – 0,005%	76,0	4	5,3	220,8
9	Somelongozidă – 0,001%	82,0	17	20,7	862,5

Rezultatele din tabel denotă că hiosciamozida G sporește cantitatea boabelor legate la hibridizările la distanță de 7...10 ori în comparație cu martorul și de 1,24 ori în comparație cu analogul structural, fapt ce ne dă posibilitatea de a lărgi spectrul variațiilor genice pentru a obține noi forme productive de plante și soiuri.