



MD 3866 C2 2009.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3866** (13) **C2**
(51) Int. Cl.: *C07H 17/07* (2006.01)
C07H 3/04 (2006.01)
C07D 311/30 (2006.01)
A01N 43/16 (2006.01)
A01P 21/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

<p>(21) Nr. depozit: a 2008 0292 (22) Data depozit: 2008.12.19</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2009.03.31, BOPI nr. 3/2009</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: MAȘCENCO Natalia, MD; CHINTEA Pavel, MD; MARCENCO Alexandra, MD; FLOREA Vasile, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p>	

(54) **5,4?-dimetilcamferol 3-O-β-D-(6??α?-L?-ramnopiranozil)-glucopiranozidă în calitate de compus ce sporește productivitatea semințelor**

(57) Rezumat:

1

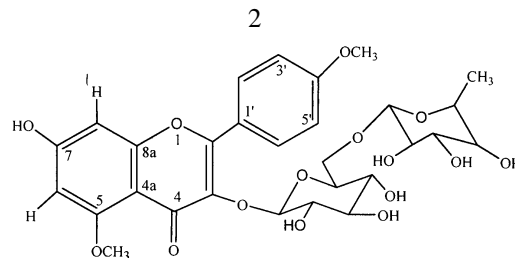
Invenția se referă la o substanță biologic activă nouă din clasa glicozidelor polifenolice seria flavonolelor care poate fi aplicată în agricultură, în particular în semenologie.

Se propune o glicozidă polifenolică nouă din seria flavonolelor 5,4?-dimetilcamferol 3-O-β-D-(6??α?-L?-ramnopiranozil)-glucopiranozidă cu formula structurală:

5

10

15



care posedă proprietăți de sporire a productivității semințelor.

Revendicări: 1

MD 3866 C2 2009.03.31

Descriere:

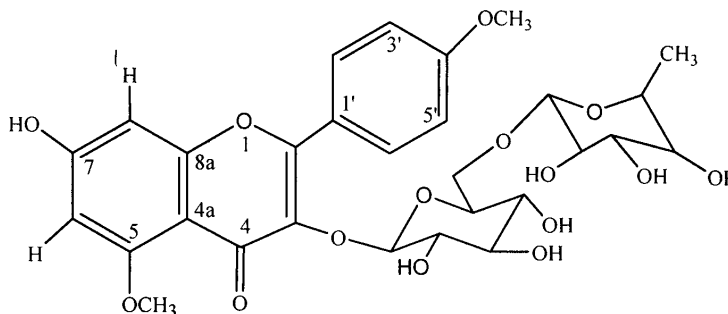
Invenția se referă la o substanță biologic activă nouă din clasa glicozidelor polifenolice seria flavonolelor care poate fi aplicată în agricultură, în particular în semenologie.

Sunt cunoscute substanțe ce măresc productivitatea semințelor culturilor legumicole. În particular, se aplică înmuierea semințelor de ardei dulce înainte de a fi semănate în soluții de glicozide steroidice de diferite concentrații [1].

În calitate de cea mai apropiată soluție a fost ales preparatul obținut din semințele de *Trigonella foenum-graecum* L., cu conținutul unei sume de glicozide în cea mai optimă concentrație de 5×10^{-3} [2]. Totuși, eficacitatea lui este joasă în comparație cu substanța solicitată, iar materia primă este limitată în comparație cu invenția solicitată.

Problema pe care o rezolvă invenția solicitată constă în lărgirea asortimentului de substanțe biologic active cu efect major asupra productivității și calității semințelor.

Se propune o glicozidă polifenolică nouă din seria flavonolelor 5,4'-dimetilcamferol 3-O-β-D-(6''α''-L''-ramnopiranozil)-glucopiranozidă cu formula structurală:



în calitate de compus ce sporește productivitatea semințelor.

Linarozida reprezintă o glicozidă fenolică de tip flavonol nouă, care nu este descrisă în literatura de specialitate. Proprietățile fizico-chimice ale substanței: $T_{top}=188...193^{\circ}C$; spectrul IR [ν_{max} KBr cm^{-1} : 3420 (oh); 2695 (C-H); 1650 (C=C); 1620 (C=O)], ce confirmă natura flavonoidică a glicozidei. Formula brută: $C_{29}H_{34}O_{15}$.

Linarozida reprezintă un praf amorf de culoare galbenă, se dizolvă bine în apă, alcoolii (metilic, etilic, butilic), cloroform.

Structura chimică a linarozidei a fost elucidată cu ajutorul spectroscopiei ^{13}C -RMN și 1H -RMN.

Datele spectrale ^{13}C și 1H -RMN au demonstrat prezența semnalelor pentru ciclul aromatic, cât și a semnalelor pentru două substituții de metoxi grupe în aglicon. Datele spectrului 1H -RMN au sugerat că linarozida este o dizaharidă în baza prezenței a două semnale corespunzătoare protonului anomic al β-glucozei și α-ramnozei. S-a concluzionat că α-ramnoza este atașată în poziția C₆ a glucozei, fapt confirmat prin datele spectrale ^{13}C -RMN, 1H - 1H COSY experimentale și datele spectrului HMBC, stabilind dizaharida ca 3-O-rutinozidă.

De asemenea, cu ajutorul spectrelor ^{13}C și 1H -RMN a fost stabilită și structura agliconului care a fost identificat ca 5,4'-dimetilcamferol.

Rezultatul invenției constă în aceea că a fost obținută o glicozidă fenolică nouă, care sporește productivitatea semințelor la o plantă mai pronunțat în comparație cu cea mai apropiată soluție, concomitent contribuie la extinderea asortimentului de glicozide care pot fi utilizate în calitate de compus ce posedă activitate de reglare a productivității semințelor.

Procesul de obținere a linarozidei

5,4'-dimetilcamferol 3-O-β-D-(α -ramnopiranozil)-glucopiranozidă'-L (linarozidă) a fost obținută prin următorul procedeu: planta *Linaria vulgaris* Mill. (2 kg) (selecționată pe câmpul experimental al Institutului de Genetică și Fiziologie a Plantelor de doctor habilitat în biologie V. Florea) uscată la aer liber a fost mărunțită, extrasă cu soluția de etanol de 70% la reflux (4 l x 3 ori) timp de 5 ore de fiecare dată. Extractul total a fost concentrat și extras cu cloroform și n-butanol. Frația butanolică a fost distilată în vid (pentru a obține 50 g de suma glicozidelor), purificată prin cristalizare și fracționată prin metodele cromatografice combinate: coloanele (60 mm x 30 mm) cu silicagel (40 x 100 μ m, Merck) cu sisteme de solvenți cloroform : metanol : apă = 95:5:0 \rightarrow 300:120:30 (v/v/v) și Sephadex LH=20 utilizând MeOH ca solvent. Frațiunile (5 ml) au fost colectate și caracterizate cu cromatografia în strat subțire pe Silufol. Frațiunile cu R_f similare au fost recombine și în continuare purificate cu ajutorul HPLC. S-au obținut 0,12 g de linarozidă.

MD 3866 C2 2009.03.31

4

Exemplu de realizare a invenției

În experiență se utilizează semințele de *Calendula officinalis* L.

5 Pentru testarea activității biologice a 5,4'-dimetilcamferol 3-O-β-D-(2-α-ramnopiranozil)-glucopiranozidă'-L (linarozidă), o parte a semințelor de *Calendula officinalis* L. au fost înmuiate în soluții apoase de 0,001; 0,005 și 0,01% (invenție) ale substanței timp de 12 ore, după care au fost semănate în câmp.

Pentru comparație, în aceleași condiții s-a luat o altă parte de semințe înmuiate în soluție apoasă de trigonelozidă în concentrația de $(5 \times 10^{-3})\%$ (cea mai apropiată soluție).

10 Trigonelozida a fost obținută în modul următor: semințele de *Trigonella foenum-graeceum* L. s-au tratat cu soluție apoasă de metanol de 50% prin fierbere. Restul apos obținut a fost fiert cu acetonă în proporție de 1:1 timp de 30 minute [2].

În calitate de martor s-au luat semințele tratate cu apă distilată.

Rezultatele cercetărilor în câmp sunt prezentate în tabel.

Tabelul

15 Acțiunea linarozidei asupra productivității de semințe la o plantă
Calendula officinalis L.

Nr. d/o	Varianta, concentrația (%)	Înălțimea tulpinii, cm	Numărul de inflorescențe cu fructe	Masa semințelor pe o plantă
1	Martor (apă distilată)	58,3±0,56 V=9,61	14,7±0,36 V=24,56	4,3±0,11 V=25,58
2	Linarozidă (0,001%)	59,5±1,45 V=7,34	16,5±8,04 V=50,65	7,33±0,23 V=24,60
3	Linarozidă (0,005%)	59,7±1,90 V=8,50	16,7±3,24 V=52,80	8,35±0,45 V=20,50
4	Linarozidă (0,01%)	60,4±0,51 V=8,75	18,1±0,75 V=53,33	8,5±0,36 V=42,00
5	Trigonelozidă (0,005%)	50,0±1,02 V=8,25	15,0±2,21 V=35,52	6,15±0,15 V=27,42

20 Rezultatele tabelului denotă că pentru specia *Calendula officinalis* L. un efect bioreglator mai pronunțat s-a realizat în varianta semințelor tratate cu soluție de linarozidă cu concentrația de 0,01% în comparație cu soluția martor (apă distilată), realizând cea mai mare masă a semințelor (8,5±0,36). În varianta dată producția seminceră a depășit martorul aproape de 2 ori.

25

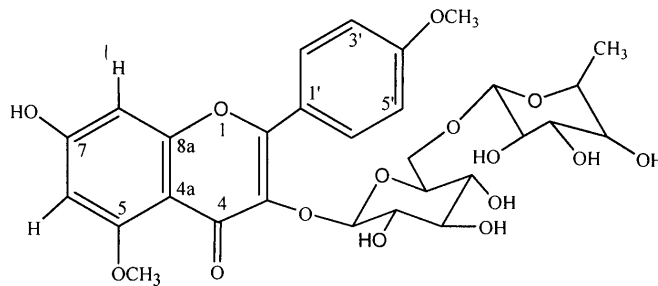
MD 3866 C2 2009.03.31

5

(57) Revendicări:

5,4'-dimetilcamferol 3-O-β-D-(6''-α'-L'-ramnopiranozil)-glucopiranozidă cu formula structurală:

5



în calitate de compus ce sporește productivitatea semințelor.

10

(56) Referințe bibliografice:

1. Мащенко Н.Е., Кинтя П.К., Беспалько Л.В., Козарь Е.Г., Пышная О.Н., Балашова И.Т. Повышение семенной продуктивности овощных культур с помощью стероидных гликозидов молдстима и тригонеллозида на примере перца сладкого – I Международная научно-практическая конференция «Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы». Т. I, с. 340-342
2. MD 2037 G2 2003.06.30

Șef Secție: COLESNIC Inesa

Examinator: GORDIENCO Maria

Redactor: CANȚER Svetlana