



MD 4301 B1 2014.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4301** (13) **B1**
(51) Int.Cl.: *C07H 17/04* (2006.01)
C07H 3/02 (2006.01)
C07D 311/94 (2006.01)
C07D 303/02 (2006.01)
A01N 43/16 (2006.01)
A01P 21/00 (2006.01)
A01N 43/20 (2006.01)
C07H 1/08 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

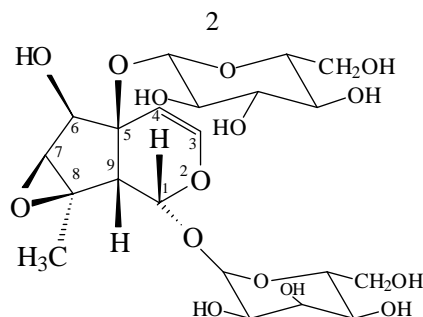
In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2013 0036 (22) Data depozit: 2013.06.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.08.31, BOPI nr. 8/2014
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	
(72) Inventatori: MASCENCO Natalia, MD; CHINTEA Pavel, MD; GUREV Angela, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) 1-epi-5-O-alozilantirinozida pentru tratarea semințelor de salată verde

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la o substanță biologică activă, din clasa glicozidelor iridoidice, care poate fi aplicată în agricultură, în particular la tratarea semințelor.

Conform invenției, se revendică compusul 1-epi-5-O-alozilantirinozida, cu fomula:



pentru tratarea semințelor de salată verde.

Revendicări: 1

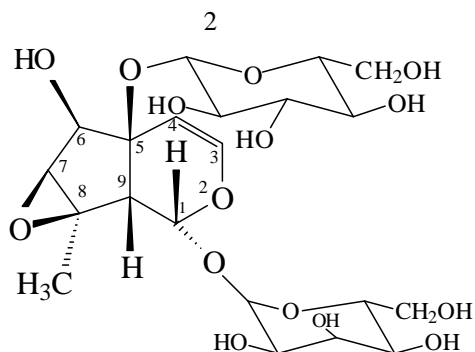
MD 4301 B1 2014.08.31

(54) 1-epi-5-O-alozilantirinozide for the treatment of lettuce seeds**(57) Abstract:**

1

The invention relates to a biologically active substance from the class of iridoid glycosides, which can be used in agriculture, in particular for seed treatment.

According to the invention, it is claimed the 1-epi-5-O-alozilantirinozide compound of formula:



for the treatment of lettuce seeds.

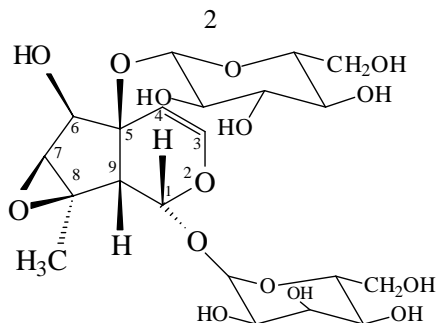
Claims: 1

(54) 1-эпи-5-О-алозилантиринозид для обработки семян зеленого салата**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к биологически активному веществу класса иридоидных гликозидов, которое может быть использовано в сельском хозяйстве, в частности для обработки семян.

Согласно изобретению, заявляют соединение 1-эпи-5-О-алозилантиринозид формулой:



для обработки семян зеленого салата.

П. формулы: 1

Descriere:

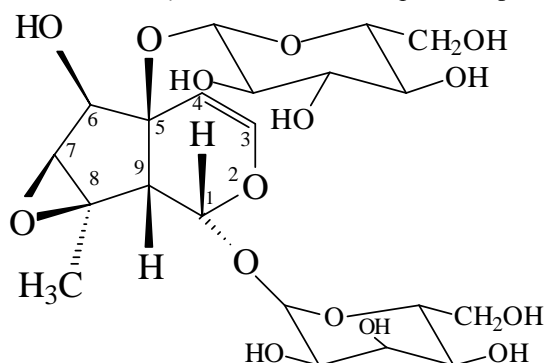
Invenția se referă la o substanță biologic activă din clasa glicozidelor iridoidice, care poate fi aplicată în agricultură, în particular la tratarea semințelor.

5 In calitate de cea mai apropiată soluție este cunoscută utilizarea linarozidelor sumare izolate din planta *Linaria vulgaris* (L.) Mill. pentru tratarea semințelor de salată verde [1].

Dezavantajul acestei soluții constă în proprietățile scăzute de stimulare a creșterii lungimii rădăcinilor și a lungimii axelor hipocotile.

10 Problema pe care o rezolvă invenția constă în lărgirea sortimentului de substanțe biologic active, ecologic inofensive, cu efect stimulator al creșterii răsadurilor de salată verde, din semințe cu termen de păstrare îndelungat.

Conform invenției, se revendică compusul 1-epi-5-O-alozilantirinozida, cu fomula:



15 pentru tratarea semințelor de salată verde.

Genistifoliozida **D** [α] $^{20}_D$ -34,6, conform datelor spectroscopiei de masă ESMS, unde se conține picul ionului cvasimolecular $[M+H]^+$ la m/z 525,38 are formula moleculară $C_{21}H_{32}O_{15}$. Genistifoliozida **D** reprezintă un praf amorf, de culoare bej, care se dizolvă în solvenți polari (apă, alcool metilic, etilic, butilic).

20 Structura genistifoliozidei **D** a fost determinată cu ajutorul spectroscopiei ^{13}C -RMN și 1H -RMN, cu utilizarea procedeeelor 2D-RMN și NOE. După atribuirea celor 21 de semnale ale atomilor de carbon încadrate în spectrul ^{13}C -RMN și compararea lor cu datele din sursele bibliografice, am presupus că genistifoliozida **D** este o glicozidă iridoidică cu două resturi monozaharidice. Spectrul 1H -RMN al **D** confirmă natura iridoidică a agliconului, la care sunt atașate monozaharidele glucoza și aloza. Semnalele C-3, C-4 din aloză în ^{13}C -RMN sunt deplasate

25 în câmp mai puternic comparativ cu semnalele atomilor similari din glucoză, iar tripletul la δ 4,7 ($J = 2,7$ Hz;) confirmă structura alozei.

Spectrul 1H -RMN și o serie de experiențe NOE ne-au dovedit că genistifoliozida **D** are configurația R la centrul asimetric C-1 din aglicon. Constanta interacțiunii spin-spin ($J_{1,9} = 3,7$ Hz) dintre atomii de hidrogen H-1 și H-9 ai agliconului denotă că acești atomi nu se află în poziția trans, totodată, între grupul metil-10 și hidrogenul H-1 există interacțiune NOE.

Cele expuse mai sus ne permit să concluzionăm că genistifoliozida **D** are în calitate de aglicon 1-epi-antirinozida, la care în poziția 5 este legată β -D-alopiranoza.

35 Rezultatul invenției consă în obținerea unei glicozide iridoidice noi din planta *Linaria genistifolia* (L.) Mill., cu proprietăți de stimulare a creșterii răsadurilor de salată verde din semințe cu termen de păstrare îndelungat, ceea ce contribuie la lărgirea sortimentului de substanțe biologic active pentru utilizare în agricultură.

Procedeeul de obținere a genistifoliozidei **D**

1-epi-5-O-alozilantirinozida, numită și genistifoliozida **D**, a fost obținută în modul următor: planta *Linaria genistifolia* (L.) Mill. a fost colectată în întregime în perioada de înflorire, uscată în aer liber (1 kg), mărunțită și extrasă cu soluție hidrometanolică de 60% (2 x 3 l), timp de 7 ore de fiecare dată. Extractele au fost unite, concentrate prin distilare in vid. Reziduul uscat obținut a fost extras cu cloroform, apoi cu butan-1-ol. Frațiunea butanolică a fost concentrată prin distilare în vid până la uscat. Reziduul obținut a fost purificat prin recristalizare din acetona (s-au obținut 28 g de glicozide sumare), totalul de glicozide a fost fracționat prin metode cromatografice: cromatografia pe coloane (60 x 30 mm) cu silicagel (40 x 100 μ m, Merk) și sisteme de eluenți de

MD 4301 B1 2014.08.31

diferită polaritate: cloroform / metanol (4:1, vol/vol), cloroform / metanol / apă (95:5:0→10:4:1, vol/vol/vol), și coloane cu Sephadex LH-20 utilizând soluție apoasă de MeOH de 10%. Au fost colectate fracțiuni a câte 5 ml și analizate prin cromatografiere în strat subțire de silicagel pe plăci Silufol. Fracțiunile cu aceleași constante cromatografice ($R_f=0,34$ în sistemul cloroform/metanol de 8/2) s-au combinat și concentrat prin distilare în vid până la uscat, rezultând 58 mg de genistifoliozidă **D**.

Exemplu de realizare a invenției

În experiență s-au utilizat semințe de salată verde de soiul "Moskovskii parnikovii" cu diferit termen de păstrare: 1 an și 4 ani.

Pentru testarea activității biologice a 1-epi-5-O-alozilantirinozidei (genistifoliozida **D**), o parte din semințele de salată verde cu diferit termen de păstrare au fost înmuiate în soluții apoase de 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1% de genistifoliozidă **D** timp de 2 ore, după care s-au zvantat timp de 20 min. În continuare, semințele au fost plasate pentru germinare pe hârtii de filtru umezite. La a 16-a zi după germinare a fost determinată lungimea rădăcinilor și a axelor hipocotile.

Pentru comparație, în aceleași condiții, o altă parte de semințe cu diferit termen de păstrare au fost înmuiate în soluție apoasă de linarozide sumare (cea mai apropiată soluție), în cea mai eficientă concentrație de 0,0001%.

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

Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în tabel.

Tabel

Influența genistifoliozidei **D** asupra creșterii răsadurilor de salată verde de soiul "Moskovskii parnikovii" din semințe cu diferit termen de păstrare

Nr. d/o	Varianta, concentrația, %	Semințe cu termenul de 1 an		Semințe cu termenul de 4 ani	
		Lungimea rădăcinilor, mm	Lungimea axelor hipocotile, mm	Lungimea rădăcinilor, mm	Lungimea axelor hipocotile, mm
1	Apă	47,0±0,53	7,5±0,38	20,3±0,11	6,6±0,52
2	Linarozide sumare, 10 ⁻⁴	50,3±0,82	5,3±0,25	31,0±0,23	8,4±0,53
3	Genistifoliozida, 10 ⁻¹	54,6±0,49	5,8±0,36	32,7±0,45	9,8±0,42
4	Genistifoliozida, 10 ⁻²	50,3±0,56	5,9±0,23	36,9±0,23	9,6±0,36
5	Genistifoliozida, 10 ⁻³	50,8±0,45	5,7±0,29	32,4±0,135	9,3±0,42
6	Genistifoliozida, 10 ⁻⁴	52,2±0,44	5,6±0,21	39,1±0,27	10,2±0,55

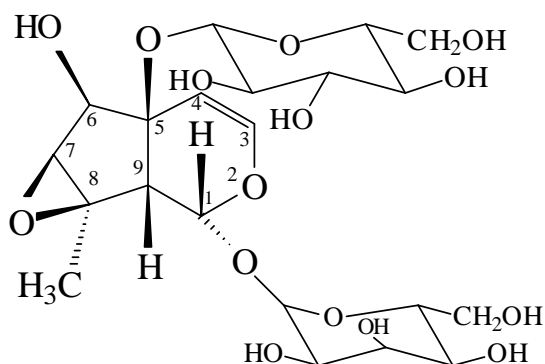
După cum se observă din tabel, genistifoliozidele au proprietatea de a stimula creșterea răsadurilor din semințele cu termen îndelungat de păstrare. Tratarea semințelor cu termenul de patru ani cu genistifoliozidă a stimulat în aceeași măsură dezvoltarea rădăcinilor și a hipocotilelor, cel mai efektiv fiind în cazul concentrației de 0,001%. Tratarea semințelor cu termenul de un an stimulează prioritar creșterea rădăcinilor. Rezultatele obținute denotă că tratarea semințelor de salată verde cu termen de păstrare îndelungat (4 ani) înainte de semănat cu genistifoliozidă, cu concentrația de 10⁻⁴%, sporește cu 39,1 mm lungimea rădăcinilor (cea ce reprezintă cu 26,1% mai mare față de cea mai apropiată soluție, unde se utilizează linarozidele sumare) și cu 10,2 mm lungimea axelor hipocotile (cea ce reprezintă cu 22,5% mai mare față de cea mai apropiată soluție, unde se utilizează linarozidele sumare izolate din planta *Linaria vulgaris* (L.) Mill.). În comparație cu varianta martor (apa) genifoliozida, în concentrația indicată mai sus, sporește lungimea rădăcinilor de aproape 2 ori, iar a axelor hipocotile de 1,5 ori.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Козарь Е. Г., Кривенко Л. В., Беспалько Л.В., Прозорова О. А., Машенко Н.Е., Кинтя П.К., Марченко А.А. Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы. Активность гликозидов на культуре салата. III Международная научно-практическая конференция 8-9 августа, 2012, р. 276-285

(57) Revendicări:

1-epi-5-O-alozilantirinozida cu fomula:



pentru tratarea semințelor de salată verde.

Director Departament:

GUȘAN Ala

Examinator:

IUSTIN Viorel

Redactor:

LOZOVANU Maria